

TRAITE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION DE L'ENREGISTREMENT
D'UN CHANGEMENT(règle 92bis.1 et
instruction administrative 422 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques
Cabinet Regimbeau
20, rue de Chazelles
F-75847 Paris Cedex 17
FRANCE

| | |
|---|--|
| Date d'expédition (jour/mois/année) 30 mars 2001 (30.03.01) | NOTIFICATION IMPORTANTE |
| Référence du dossier du déposant ou du mandataire 340063/16333 | |
| Demande internationale no PCT/FR99/01479 | Date du dépôt international (jour/mois/année) 18 juin 1999 (18.06.99) |

1. Les renseignements suivants étaient enregistrés en ce qui concerne:

☐ le déposant ☐ l'inventeur ☒ le mandataire ☐ le représentant commun

| | | |
|---|-------------------------------------|--------------------------|
| Nom et adresse MARTIN, Jean-Jacques Cabinet Regimbeau 26, avenue Kléber F-75116 Paris FRANCE | Nationalité (nom de l'Etat) | Domicile (nom de l'Etat) |
| | no de téléphone 01-45 00 92 02 | |
| | no de télécopieur 01-45-00 46 12 | |
| | no de téléimprimeur | |

2. Le Bureau international notifie au déposant que le changement indiqué ci-après a été enregistré en ce qui concerne:

☐ la personne ☐ le nom ☒ l'adresse ☐ la nationalité ☐ le domicile

| | | |
|---|-------------------------------------|--------------------------|
| Nom et adresse MARTIN, Jean-Jacques Cabinet Regimbeau 20, rue de Chazelles F-75847 Paris Cedex 17 FRANCE | Nationalité (nom de l'Etat) | Domicile (nom de l'Etat) |
| | no de téléphone 01-44-29 35 00 | |
| | no de télécopieur 01-44-29 35 99 | |
| | no de téléimprimeur | |

3. Observations complémentaires, le cas échéant:

4. Une copie de cette notification a été envoyée:

☒ à l'office récepteur ☐ aux offices désignés concernés
☐ à l'administration chargée de la recherche internationale ☒ aux offices élus concernés
☒ à l'administration chargée de l'examen préliminaire international ☐ autre destinataire:

| | |
|---|--|
| Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur (41-22) 740.14.35 | Fonctionnaire autorisé: Simin Baharlou no de téléphone (41-22) 338.83.38 |
|---|--|

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

| | |
|--|---|
| Date d'expédition (jour/mois/année) 03 avril 2000 (03.04.00) | |
| Demande internationale no PCT/FR99/01479 | Référence du dossier du déposant ou du mandataire 340063/16333 |
| Date du dépôt international (jour/mois/année) 18 juin 1999 (18.06.99) | Date de priorité (jour/mois/année) 05 août 1998 (05.08.98) |
| Déposant AMSON, Robert etc | |

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:



dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

01 mars 2000 (01.03.00)



dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection



a été faite



n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

| | |
|--|------------------------------------|
| Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse | Fonctionnaire autorisé R. Forax |
| no de télécopieur: (41-22) 740.14.35 | no de téléphone: (41-22) 338.83.38 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

| | | |
|---|---|---|
| (51) Classification internationale des brevets ⁷ : C12N 15/12, 15/86, 5/10, C07K 14/82, 14/47, 16/32, C12Q 1/68, G01N 33/50, A61K 31/70, 38/17 | A1 | (11) Numéro de publication internationale: WO 00/08147 (43) Date de publication internationale: 17 février 2000 (17.02.00) |
| (21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/01479 (22) Date de dépôt international: 18 juin 1999 (18.06.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/10077 5 août 1998 (05.08.98) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH [FR/FR]; 27, rue Juliette Dodu, F-75010 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): AMSON, Robert [FR/FR]; 10, rue Gay Lussac, F-75005 Paris (FR). TEL- ERMAN, Adam [FR/FR]; 12, rue de la Chaise, F-75007 Paris (FR). (74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regim- beau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR). | (81) Etats désignés: CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> | |
| (54) Title: GENES INVOLVED IN THE MOLECULAR PATHS FOR TUMOUR SUPPRESSION AND /OR RESISTANCE TO VIRUSES | | |
| (54) Titre: GENES IMPLIQUES DANS LES VOIES MOLECULAIRES DE LA SUPPRESSION TUMORALE ET/OU LA RESISTANCE AUX VIRUS | | |
| (57) Abstract | | |
| The invention concerns genes involved in the molecular paths for tumour suppression and/or resistance to viruses, and whereof the cell expression is in particular induced or inhibited during apoptosis and/or tumour suppression. | | |
| (57) Abrégé | | |
| L'invention concerne des gènes impliqués dans les voies moléculaires de la suppression tumorale et/ou la résistance aux virus, et dont l'expression cellulaire est notamment induite ou inhibée lors de l'apoptose et/ou la suppression tumorale. | | |

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

| | | | | | | | |
|----|---------------------------|----|---|----|--|----|-----------------------|
| AL | Albanie | ES | Espagne | LS | Lesotho | SI | Slovénie |
| AM | Arménie | FI | Finlande | LT | Lituanie | SK | Slovaquie |
| AT | Autriche | FR | France | LU | Luxembourg | SN | Sénégal |
| AU | Australie | GA | Gabon | LV | Lettonie | SZ | Swaziland |
| AZ | Azerbaïdjan | GB | Royaume-Uni | MC | Monaco | TD | Tchad |
| BA | Bosnie-Herzégovine | GE | Géorgie | MD | République de Moldova | TG | Togo |
| BB | Barbade | GH | Ghana | MG | Madagascar | TJ | Tadjikistan |
| BE | Belgique | GN | Guinée | MK | Ex-République yougoslave de Macédoine | TM | Turkménistan |
| BF | Burkina Faso | GR | Grèce | ML | Mali | TR | Turquie |
| BG | Bulgarie | HU | Hongrie | MN | Mongolie | TT | Trinité-et-Tobago |
| BJ | Bénin | IE | Irlande | MR | Mauritanie | UA | Ukraine |
| BR | Brésil | IL | Israël | MW | Malawi | UG | Ouganda |
| BY | Bélarus | IS | Islande | MX | Mexique | US | Etats-Unis d'Amérique |
| CA | Canada | IT | Italie | NE | Niger | UZ | Ouzbékistan |
| CF | République centrafricaine | JP | Japon | NL | Pays-Bas | VN | Viet Nam |
| CG | Congo | KE | Kenya | NO | Norvège | YU | Yougoslavie |
| CH | Suisse | KG | Kirghizistan | NZ | Nouvelle-Zélande | ZW | Zimbabwe |
| CI | Côte d'Ivoire | KP | République populaire démocratique de Corée | PL | Pologne | | |
| CM | Cameroun | KR | République de Corée | PT | Portugal | | |
| CN | Chine | KZ | Kazakstan | RO | Roumanie | | |
| CU | Cuba | LC | Sainte-Lucie | RU | Fédération de Russie | | |
| CZ | République tchèque | LI | Liechtenstein | SD | Soudan | | |
| DE | Allemagne | LK | Sri Lanka | SE | Suède | | |
| DK | Danemark | LR | Libéria | SG | Singapour | | |
| EE | Estonie | | | | | | |

PCT

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

-(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

| | | |
|--|---|---|
| Référence du dossier du déposant ou du mandataire 340063/16333 | POUR SUITE voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après A DONNER | |
| Demande internationale n° PCT/FR 99/01479 | Date du dépôt international (jour/mois/année) 18/06/1999 | (Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 05/08/1998 |
| Déposant FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH et al. | | |

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 4 feuilles.



Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.



la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.

- b. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :



contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.



déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.



remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.



remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.



La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne vas pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.



La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. ☐ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

3. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le titre,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.



Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

5. En ce qui concerne l'abrégé,



le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant



le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la Figure n°



suggérée par le déposant.



parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.



parce que cette figure caractérise mieux l'invention.



Aucune des figures n'est à publier.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No
PCT/FR 99/01479

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

| | | | | | |
|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| CIB 7 | C12N15/12 | C12N15/86 | C12N5/10 | C07K14/82 | C07K14/47 |
| | C07K16/32 | C12Q1/68 | G01N33/50 | A61K31/70 | A61K38/17 |

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C12N C07K C12Q G01N A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie ° | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-------------|---|-------------------------------|
| X | WO 97 22695 A (FONDATION JEAN DAUSSET CEPH ; TALERMAN ADAM (FR); AMSON ROBERT (FR)) 26 juin 1997 (1997-06-26) abrégé page 1 -page 3 exemples 1,2 revendications 1-32 * remarquez que l'expression de gènes en amont, notamment p53, assure la régulation des gènes revendiqués ici * | 16,18, 21,22 |
| A | | 1-15,17, 19,20, 23-25 |

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

8 octobre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

21/10/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Galli, I

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|--|-------------------------------|
| X | AMSON R B ET AL: "ISOLATION OF 10 DIFFERENTIALLY EXPRESSED CNDAS IN P53-INDUCED APOPTOSIS: ACTIVATION OF THE VERTEBRATE HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA SEVEN IN ABSENTIA GENE" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 93, no. 9, 30 avril 1996 (1996-04-30), pages 3953-3957, XP002032914 ISSN: 0027-8424 --- | 16,18, 21,22 |
| X | WO 95 20654 A (CANCER RES INST ROYAL ;WILLISON KEITH ROBERT (GB); KUBOTA HIROSHI) 3 août 1995 (1995-08-03) abrégé figure 8E revendications 1-28 --- | 1,8-20 |
| X | DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. AA935282, 23 juin 1998 (1998-06-23) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1556458" XP002104346 * comparez avec la séq. 2 du dossier soumis * | 1,8-14 |
| X | DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. AI022498, 19 juin 1998 (1998-06-19) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1650253, similar to T-complex protein 1 (TCP-1) epsilon subunit." XP002104347 * comparez avec la séq. 1 du dossier soumis * | 1,8-14 |
| A | NEMANI M. ET AL: "ACTIVATION OF THE HUMAN HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA SINA GENE IN APOPTOSIS AND TUMOR SUPPRESSION" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 93, no. 17, 20 août 1996 (1996-08-20), pages 9039-9042, XP000611649 cité dans la demande --- -/-- | 1-25 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| A | <p>ROPERCH J.P. ET AL.: "Inhibition of presenilin-1 expression is promoted by p53 and p21/WAF1 and results in apoptosis and tumor suppression." NATURE MEDICINE, vol. 4, no. 7, juillet 1998 (1998-07), pages 835-838, XP002104344 cité dans la demande le document en entier</p> | 1-25 |
| A | <p>ISRAELI D. ET AL.: "A novel p53-inducible gene, PAG608, encodes a nuclear zinc finger protein whose overexpression promotes apoptosis." EMBO J., vol. 16, no. 14, 1997, pages 4384-4392, XP002104345 le document en entier</p> | 1-25 |
| A | <p>LINARE-CRUZ G. ET AL.: "p21WAF-1 reorganizes the nucleus in tumor suppression" PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, vol. 95, no. 3, 3 février 1998 (1998-02-03), pages 1131-1135, XP002118217 le document en entier</p> | 1-25 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/FR 99/01479

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9722695 A | 26-06-1997 | FR 2742766 A | 27-06-1997 |
| | | FR 2747691 A | 24-10-1997 |
| | | CA 2240449 A | 26-06-1997 |
| | | EP 0868512 A | 07-10-1998 |
| WO 9520654 A | 03-08-1995 | AU 1541395 A | 15-08-1995 |
| | | CA 2182499 A | 03-08-1995 |
| | | EP 0742822 A | 20-11-1996 |
| | | JP 10500001 T | 06-01-1998 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/GB 95/00192

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/12 C12N1/21 C12N1/19 C07K14/47 C07K16/18

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C12N C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 19, no. 22, 25 November 1991 IRL PRESS LIMITED, OXFORD, ENGLAND, pages 6123-6127, C. HÖÖG 'Isolation of a large number of novel mammalian genes by a differential cDNA library screening strategy' accession no. X61852 --- -/-- | 1, 4-7 |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *B* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 June 1995

Date of mailing of the international search report

- 3. 07. 95

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Hornig, H

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/GB 95/00192

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | DNA RESEARCH, vol. 1,no. 1, January 1994 KAZUSA DNA RES. UNIV.ACAD.PRESS,INC.,TOKYO,JP, page 27-35 N. NOMURA ET AL. 'Prediction of the coding sequences of unidentified human genes I. The coding sequences of 40 new genes (KIAA0001-KIAA0040) deduced by analysis of randomly sampled cDNA clones from human immature myeloid cell line KG-1' accession no. D13627 --- | 19,20 |
| X | NATURE GENETICS, vol. 4, July 1993 NATURE PUBLISHING CO., NEW YORK, US, pages 256-267, M.D. ADAMS ET AL. '2,400 new expressed sequence tags identify diversity of transcripts in human brain' accession no. T06605 --- | 19,20 |
| P,X | PROC. NATL.ACAD SCI., vol. 89,no. 13, 1 July 1991 NATL. ACAD SCI.,WASHINGTON,DC,US,, pages 6060-6064, G.B. SEGEL ET AL. 'Isolation of a gene encoding a chaperonin-like protein by complementation of yeast amino acid transport mutants with human cDNA' cited in the application accession no. P40227 see figure 4 --- | 19,20 |
| X | WO,A,93 25681 (UNIV NEW YORK) 23 December 1993 --- | 13 |
| A | see page 12, line 9 - page 13, line 24; claims 1-38 --- | 22-24 |
| A | GENE, vol. 120,no. 2, 21 October 1992 ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS,B.V.,AMSTERDAM,NL,, pages 207-215, H. KUBOTA ET AL. 'Structure and expression of the gene encoding mouse t-complex polypeptide (Tcp-1)' the whole document --- -/-- | 1-28 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/GB 95/00192

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| A | GENE, vol. 105, no. 2, 15 September 1991 ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, B.V., AMSTERDAM, NL; pages 269-273, H. KUBOTA ET AL. 'Nucleotide sequence of mouse Tcp-1 cDNA' cited in the application the whole document --- | 1-28 |
| P, X | CURR. BIOL. (1994), 4(2), 89-99 CODEN: CUBLE2; ISSN: 0960-9822, 1994 KUBOTA, HIROSHI ET AL 'Identification of six Tcp-1-related genes encoding divergent subunits of the TCP-1-containing chaperonin' cited in the application see page 90, right column, line 4 - page 97, right column, line 5; figures 1-7 --- | 1-21 |
| P, A | BIOCHIMICA BIOPHYSICA ACTA, vol. 1217, 1 March 1994 ELSEVIER SCIENCE, AMSTERDAM, NL, pages 224-226, E.C. JOLY ET AL. 'cDNA encoding a novel TCP-1 related protein' accession no. P80318 (CCT-gamma) see figure 1 ----- | 13, 14, 16, 21 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/GB 95/00192

Patent document
cited in search report

Publication
date

Patent family
member(s)

Publication
date

WO-A-9325681

23-12-93

NONE

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 09 NOV 2000

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL PCT

(article 36 et règle 70 du PCT)

51



| | | |
|---|--|--|
| Référence du dossier du déposant ou du mandataire 340063/16333 | POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416) | |
| Demande internationale n° PCT/FR99/01479 | Date du dépôt international (jour/mois/année) 18/06/1999 | Date de priorité (jour/mois/année) 05/08/1998 |
| Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N15/12 | | |
| Déposant FONDATION JEAN DAUSSET-CEPH et al. | | |

- Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
- Ce RAPPORT comprend 8 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
 - ☐ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent feuilles.

- Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☒ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

| | |
|--|--|
| Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 01/03/2000 | Date d'achèvement du présent rapport 07.11.2000 |
| Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465 | Fonctionnaire autorisé Marinoni, J-C N° de téléphone +49 89 2399 8563  |

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/01479

I. Bas du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

Description, pages:

1-18 version initiale

Revendications, N°:

1-25 version initiale

Dessins, feuilles:

1/2-2/2 version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

IV. Absence d'unité de l'invention

1. En réponse à l'invitation à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles, le déposant a
- ☐ limité les revendications.
 - ☐ payé des taxes additionnelles.
 - ☐ payé des taxes additionnelles sous réserve.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/01479

- ☐ ni limité les revendications ni payé des taxes additionnelles.
2. ☒ L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime qu'il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité d'invention et décide, conformément à la règle 68.1, de ne pas inviter le déposant à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles.
3. L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime que, aux termes des règles 13.1, 13.2 et 13.3,
- ☐ il est satisfait à l'exigence d'unité de l'invention.
- ☒ il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité de l'invention, et ce pour les raisons suivantes :
voir feuille séparée
4. En conséquence, les parties suivantes de la demande internationale ont fait l'objet d'un examen préliminaire international lors de la formulation du présent rapport :
- ☒ toutes les parties de la demande.
- ☐ les parties relatives aux revendications n°s .

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

| | |
|--|---------------------------|
| Nouveauté | Oui : Revendications 8-24 |
| | Non : Revendications 1-7 |
| Activité inventive | Oui : Revendications NONE |
| | Non : Revendications 1-24 |
| Possibilité d'application industrielle | Oui : Revendications 1-24 |
| | Non : Revendications NONE |

2. Citations et explications

voir feuille séparée

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

voir feuille séparée

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Concernant le point IV

Absence d'unité de l'invention

1. Chacune des **15 séquences revendiquées**, les vecteurs les comprenant, les cellules contenant ces vecteurs, etc... forment autant de groupes d'inventions différents. La présente demande contient donc **15 groupes d'inventions** distincts.
2. Ces groupes d'inventions ne sont pas liés entre eux de telle sorte qu'ils ne forment qu'un seul concept inventif général (règle 13.1 PCT), et ce pour les raisons suivantes:
 - (a) La caractéristique technique commune aux inventions identifiées réside dans le fait que l'expression des gènes en question est soit inhibée, soit induite lors de l'apoptose ou de la suppression tumorale. Cependant, de tels gènes, identifiés selon la même méthode que les gènes de la présente demande (cf. **D3**, page 9041, paragraphe "Models of tumor suppression and activation of HUMSIAH"; voir également **D5** et **D6**), sont déjà connus (voir l'objection soulevée au **point V-1(3)**).
 - (b) Par ailleurs, l'objet de la **revendication indépendante 1** est déjà connu (cf. les motifs de cette objection).

Concernant le point V

Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

Il est fait référence aux documents suivants:

- D1:** DATABASE GENBANK Accession No. AA935282, 23 juin 1998
D2: DATABASE GENBANK Accession No. AI022498, 19 juin 1998
D3: PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, Vol. 93, Août 1996, pages 9039-9042, Nemani et al. 'Activation of the human homologue of the *Drosophila sina* gene in apoptosis and tumor suppression'
D4: NATURE MEDICINE, Vol. 4, No.7, Juillet 1998, pages 835-838, Roperch et al. 'Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21^{wat-1} and results in

THIS PAGE BLANK (USPTO)

apoptosis and tumor suppression'

D5: WO 97/22695, 26 juin 1997

D6: PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, Vol. 93, Avril 1996, pages 3953-3957, Amson et al. 'Isolation of 10 differentially expressed cDNAs in p-53-induced apoptosis: activation of the vertebrate homologue of the *Drosophila* seven in absentia gene'

1. L'objet de la **revendication 1** ne satisfait pas les exigences de nouveauté de l'Article 33(2) PCT pour les raisons suivantes:

(1) **D1** décrit une séquence nucléique qui possède 96,2% d'identité avec la séquence IND SEQ No:3. En conséquence, et compte tenu de l'objection soulevée au **point VIII-3**, la séquence de **D1** s'hybride à la séquence complémentaire de IND SEQ No:3.

(2) De même **D2** décrit une séquence nucléique qui possède 97,9% d'identité avec la séquence IND SEQ No:3. En conséquence, et compte tenu de l'objection soulevée au **point VIII-3**, la séquence de **D2** s'hybride à la séquence complémentaire de IND SEQ No:3.

(3) Lors de l'apoptose et de la suppression cellulaire, l'expression des gènes TSAP1 à 8 est induite et l'expression des gènes TSIP1 et TSIP2 est inhibée (cf. **D5**, résumé; **D6**). Pour TSAP3 voir également **D3**, page 9040, paragraphe "HUMSIAH and physiological Apoptosis" et page 9041, paragraphe "Models of tumor suppression and activation of HUMSIAH". Pour TSIP2 (presenilin 1) voir également **D4**, résumé.
De même, le gène p53 est réexprimé dans la lignée KS (voir la description, page 11, lignes 27-28). Le gène p53 n'est de toute évidence pas nouveau.

(4) La séquence nucléique TSAP13 étendue (IND SEQ No:5) est partiellement identique à la séquence de la sous-unité p40.5 du protéasome 26S humain. De même, la séquence nucléique TSAP21 étendue (IND SEQ No:13) est partiellement identique à la séquence de la syntaxine 11 (cf. page 8, lignes 8-15). Ces deux gènes connus ont une séquence qui s'hybride à la séquence complémentaire de TSAP13 et TSAP21 respectivement.

2. Les **r revendications dépendantes 2-7** ne contiennent aucune caractéristique qui,

THIS PAGE BLANK (USPTO)

en combinaison avec celles de l'une quelconque des revendications auxquelles elles se réfèrent, définisse un objet qui satisfasse aux exigences du PCT en ce qui concerne la nouveauté.

3. Le bénéfice de l'activité inventive ne peut être accordé à des vecteurs comprenant des séquences d'ADN connues, des cellules contenant lesdits vecteurs, les protéines obtenues après culture des dites cellules, etc... En conséquence, l'objet des **revendications 8-14** ne répond pas aux exigences de l'Article 33(3) PCT concernant l'activité inventive.
4. De manière générale, la brevetabilité d'une nouvelle séquence nucléique est subordonnée à l'identification d'une fonction du gène ou de son produit qui permettrait de résoudre un problème technique donné (Articles 5 et 33(3) PCT pris conjointement). Comme expliqué au **point IV-2(a)**, dans la présente demande, le problème technique sous-jacent réside simplement dans le clonage de nouvelles séquences dont l'expression est soit inhibée soit induite lors de l'apoptose et/ou de la suppression tumorale. A la lecture de **D6** (avant-dernier paragraphe), il semble évident que de nombreux gènes de ce type restaient encore à découvrir. En étant incité, grâce à **D6**, à appliquer les techniques décrites, l'homme du métier aurait identifié les séquences revendiquées.

En conséquence, une activité inventive ne peut être reconnue pour les protéines revendiquées, les vecteurs ou les séquences qui les codent, ni pour leur utilisation à titre de médicament, d'agent de diagnostique ou autre (**revendications 1-25**).

5. De plus, la fonction d'aucune des séquences revendiquées n'a été mise en évidence (IND SEQ No:1-15). La simple hypothèse que ces gènes sont "de potentiels gènes suppresseurs" n'est pas suffisante et ne constitue pas la preuve qu'une fonction a été identifiée. Par ailleurs, certaines des séquences revendiquées sont des EST (cf. Tableau 1 par exemple, mais aussi les IND SEQ No.1, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 12 et 15 au moins, qui sont de toute évidence des séquences incomplètes). En conséquence, la brevetabilité de ces séquences pourrait éventuellement être mise en doute au cours de la phase régionale.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Concernant I point VIII**Observations relatives à la demande internationale**

1. Les séquences revendiquées par exemple dans la **revendication 1** ne sont limitées par aucune caractéristique fonctionnelle, étendant de façon induue la portée des revendications, contrairement aux exigences de l'Article 6 PCT.
2. Les **revendications 1, 3 et 5** contiennent une référence à des "gènes équivalents". Ce terme est vague et ne permet pas de définir clairement les gènes en question (Article 6 PCT).
3. La **revendication 1**, point (b), contient une référence à "une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a)". Par définition, une telle séquence complémentaire ne code pas pour une protéine possédant la fonction des protéines codées par les séquences revendiquées en (a). L'objet de la **revendication 1** n'est donc pas clair (Article 6 PCT). Pour l'établissement de la présente opinion, il est considéré que les séquences revendiquées doivent d'hybrider avec la séquence complémentaire de l'une des séquences 1 à 15.
4. Le point (d) de la **revendication 4** concerne toute "séquence caractérisée en ce que l'expression cellulaire du gène est induite ou inhibée lors de l'apoptose et/ou de suppression tumorale". L'intitulé du point (d) est vague et ne limite pas suffisamment l'objet pour lequel une protection est recherchée (Article 6 PCT). Il en découle l'objection de nouveauté émise sous le **point V-1(3)**.
5. La **revendication 3** contient une référence à "TSAP9 à TSAP22". Ces termes n'ont aucune signification pour l'homme du métier. Ils ne permettent donc pas de caractériser les séquences revendiquées (Article 6 PCT).
6. De même, la **revendication 5** contient une référence à "TSIP3". Ce terme n'a aucune signification pour l'homme du métier. Il ne permet donc pas de caractériser la séquence revendiquée (Article 6 PCT).
7. Le libellé de la **revendication 7** est confus (que sont des "transfectants p21, TSAP3 et antisens TSIP2" ?): il en résulte que l'objet pour lequel une protection

THIS PAGE BLANK (USPTO)

est recherché n'est pas clair (Article 6 PCT).

8. L'intitulé des **revendications 15-24** n'est pas conforme aux exigences de l'Article 6 PCT en combinaison avec la Règle 6.3(b) PCT.
9. L'intitulé de la **revendication 25** n'est pas clair, ce qui introduit un doute quant l'objet pour lequel une protection est recherché (Article 6 PCT). Par ailleurs, les modèles en question sont pour le moins succinctement décrits dans la présente demande (cf. page 6, lignes 30-31), pouvant entraîner dans la phase régionale des objections quant au fondement (Article 6 PCT) et à la suffisance de la divulgation (Article 5 PCT).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

3
T
09/17/99
249
Translation

| | | |
|--|---|---|
| Applicant's or agent's file reference 340063/16333 | FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) | |
| International application No. PCT/FR99/01479 | International filing date (day/month/year) 18 June 1999 (18.06.99) | Priority date (day/month/year) 05 August 1998 (05.08.98) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/12 | | |
| Applicant MOLECULAR ENGINES LABORATORIES | | |

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 8 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☒ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

| | |
|--|--|
| Date of submission of the demand 01 March 2000 (01.03.00) | Date of completion of this report 07 November 2000 (07.11.2000) |
| Name and mailing address of the IPEA/EP | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR99/01479

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-18, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 1-25, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. _____, filed with the letter of _____,
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/2-2/2, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

international application No.

PCT/FR99/01479

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See separate sheet.

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. _____

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

3.

1. Each of the **15 claimed sequences**, the vectors comprising same, the cells containing these vectors and so on all form different groups of inventions. The present application therefore contains **15 distinct groups of inventions**.

2. These groups of inventions are not so linked as to form a single general inventive concept (PCT Rule 13.1), for the following reasons:

(a) The technical feature common to the identified inventions lies in the fact that the expression of the genes in question is either inhibited or induced during apoptosis or tumour suppression. However, such genes, identified by the same method as the genes of the present application (cf. **D3**, page 9041, paragraph "Models of tumor suppression and activation of HUMSIAH"; see also **D5** and **D6**) are already known (see the objection raised in **Box V-1(3)**).

(b) Furthermore, the subject matter of **independent Claim 1** is already known (cf. the reasons for this objection).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 99/01479

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

| | | | |
|-------------------------------|--------|------|-----|
| Novelty (N) | Claims | 8-24 | YES |
| | Claims | 1-7 | NO |
| Inventive step (IS) | Claims | NONE | YES |
| | Claims | 1-24 | NO |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-24 | YES |
| | Claims | NONE | NO |

2. Citations and explanations

Reference is made to the following documents:

- D1:** DATABASE GENBANK Accession No. AA935282, 23 June 1998;
- D2:** DATABASE GENBANK Accession No. AI022498, 19 June 1998;
- D3:** PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, Vol.93, August 1996, pages 9039-9042, Nemani et al. 'Activation of the human homologue of the *Drosophila sina* gene in apoptosis and tumor suppression';
- D4:** NATURE MEDICINE, Vol.4, No.7, July 1998, pages 835-838, Roperch et al. 'Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and p21^{waf-1} and results in apoptosis and tumor suppression';
- D5:** WO-A-97/22695, 26 June 1997;
- D6:** PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, Vol.93, April 1996, pages 3953 to 3957, Amson et al.: 'Isolation of 10 differentially expressed cDNAs in p-53-induced apoptosis: activation of the vertebrate homologue of the *Drosophila* seven in absentia gene'.

1. The subject matter of **Claim 1** does not satisfy the requirements of novelty of PCT Article 33(2) for the following reasons:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- (1) **D1** describes a nucleic sequence which is 96.2% identical to the sequence IND SEQ No.3.
Consequently, taking into account the objection raised in **Box VIII-3**, the sequence of **D1** is hybridized with the complementary sequence of IND SEQ No:3.
- (2) Similarly, **D2** describes a nucleic sequence which is 97.9% identical to the sequence IND SEQ No:3. Consequently, taking into account the objection raised in **Box VIII-3**, the sequence of **D2** is hybridized with the complementary sequence of IND SEQ No:3.
- (3) During apoptosis and cellular suppression, the expression of the genes TSAP1 to 8 is induced and the expression of the genes TSIP1 and TSIP2 is inhibited (cf. **D5**, abstract; **D6**). For TSAP3, see also **D3**, page 9040, paragraph "HUMSIAH and physiological Apoptosis" and page 9041, paragraph "Models of tumor suppression and activation of HUMSIAH". For TSIP2 (presenilin 1) see also **D4**, abstract.
Similarly, the p53 gene is re-expressed in the line KS (see description, page 11, lines 27 to 28). The p53 gene is obviously not novel.
- (4) The extended nucleic sequence TSAP13 (IND SEQ No:5) is partially identical to the sequence of the sub-unit p40.5 of the human proteasome 26S. Similarly, the extended nucleic sequence TSAP21 (IND SEQ No:13) is partially identical to the sequence of syntaxin 11 (cf. page 8, lines 8 to 15). These two known genes have a sequence which is hybridized with the complementary

THIS PAGE BLANK (USPTO)

sequence of TSAP13 and TSAP21 respectively.

2. **Dependent Claims 2 to 7** do not contain any features which, in combination with those of any one of the claims to which they refer, define a subject satisfying the requirements of the PCT as regards novelty.
3. Inventive step cannot be acknowledged for vectors comprising known DNA sequences, cells containing said vectors, the proteins obtained following the culture of said cells and so on. Consequently, the subject matter of **Claims 8 to 14** does not meet the requirements of PCT Article 33(3) as regards inventive step.
4. In general terms, the patentability of a novel nucleic sequence is subject to the identification of a function of the gene or of its product which would enable a given technical problem to be solved (PCT Articles 5 and 33(3) considered in combination). As explained in **Box IV-2(a)**, in the present application the underlying technical problem simply lies in the cloning of novel sequences, the expression of which is either inhibited or induced during apoptosis and/or tumour suppression. In the light of **D6** (penultimate paragraph), it appears obvious that numerous genes of this type still remained to be discovered. Being encouraged by **D6** to apply the techniques described, a person skilled in the art would have identified the claimed sequences.

Consequently, an inventive step cannot be acknowledged for the claimed proteins, or the vectors or sequences encoding same, nor for their

THIS PAGE BLANK (USPTO)

use as a drug, a diagnostic agent or otherwise
(**Claims 1 to 25**).

5. Furthermore, the function of none of the claimed sequences has been demonstrated (IND SEQ No:1-15). The simple hypothesis that these genes are "potential suppressor genes" is insufficient and does not constitute proof that a function has been identified. In addition, some of the claimed sequences are ESTs (cf. Table 1 for example, but also IND SEQ Nos. 1, 3, 4, 6, 8, 9, 10, 12 and 15 at least, which are obviously incomplete sequences). Consequently, the patentability of these sequences could possibly be brought into question during the regional phase.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. The sequences claimed for example in **Claim 1** are not limited by any functional feature, thereby unnecessarily extending the scope of the claims, contrary to the requirements of PCT Article 6.
2. **Claims 1, 3 and 5** contain a reference to "equivalent genes". This term is vague and does not define the genes in question clearly (PCT Article 6).
3. **Claim 1**, paragraph (b), contains a reference to "a sequence hybridizing with one of the sequences according to (a)". By definition, such a complementary sequence does not code for a protein having the function of the proteins coded by the sequences claimed in (a). The subject matter of **Claim 1** is therefore unclear (PCT Article 6). In drawing up the present report, it has been considered that the claimed sequences must hybridize with the complementary sequence of one of sequences 1 to 15.
4. Paragraph (d) of **Claim 4** relates to any "sequence characterized in that the cellular expression of the gene is induced or inhibited during apoptosis and/or tumour suppression". The wording of (d) is vague and does not limit sufficiently the subject matter for which protection is sought (PCT Article 6). This leads to the objection regarding novelty raised in **Box V-1(3)**.
5. **Claim 3** contains a reference to "TSAP9 to TSAP22".

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VIII. Certain observations on the international application

These terms have no meaning for a person skilled in the art. They do not therefore characterize the claimed sequences (PCT Article 6).

6. Similarly, **Claim 5** contains a reference to "TSIP3". This term has no meaning for a person skilled in the art. It does not therefore characterize the claimed sequence (Claim 6).
7. The wording of **Claim 7** is confusing (what are "p21, TSAP3 and anti-sense TSIP2 transfectants"?): as a result, the subject matter for which protection is sought is unclear (PCT Article 6).
8. The wording of **Claims 15 to 24** does not meet the requirements of PCT Article 6 in combination with PCT Rule 6.3(b).
9. The wording of **Claim 25** is unclear, thereby giving rise to doubt as regards the subject matter for which protection is sought (PCT Article 6). Furthermore, the models in question are to say the least succinctly described in the present application (cf. page 6, lines 30-31), which might lead to objections in the regional phase regarding support (PCT Article 6) and as to whether the disclosure is sufficiently clear (PCT Article 5).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

GENES IMPLIQUES DANS LES VOIES MOLECULAIRES DE LA SUPPRESSION TUMORALE ET/OU LA RESISTANCE AUX VIRUS

5 La présente invention concerne la mise en évidence de gènes impliqués dans les voies moléculaires de la suppression tumorale et/ou de la résistance aux virus.

 La présente invention a été rendue possible par l'isolement d'ADNc correspondant à des ARN messagers exprimés ou réprimés lors de la suppression
10 tumorale et/ou lors du processus d'apoptose induit par le gène suppresseur p53.

 L'un des gènes suppresseurs les plus importants impliqués dans l'apoptose est le gène p53. Dans sa fonction normale, ce gène contrôle la croissance cellulaire et le processus d'apoptose ; en particulier, c'est ce gène qui bloque la croissance cellulaire et qui doit induire le processus apoptotique afin d'éviter le
15 développement d'un cancer. On a ainsi mis en évidence que des souris nullizygotes pour le p53 étaient beaucoup plus sensibles à la formation de tumeurs. On a également mis en évidence le fait que, dans les cancers, le gène p53 était très souvent altéré et conduisait à la production de protéines incapables de véhiculer le message d'apoptose.

20 C'est cette particularité qui a été mise en œuvre dans le cadre de la présente invention.

 En effet, la présente invention repose sur la constatation qu'il n'est pas possible, ou du moins qu'il paraît très difficile, de mettre en place une thérapie de substitution directe lors d'un dysfonctionnement du gène p53. En effet, le p53
25 muté comme il l'est dans le cancer va annuler l'effet physiologique du p53 normal.

 Il a donc fallu renoncer, du moins dans un premier temps, à une thérapie de substitution agissant directement au niveau de p53.

 La présente invention s'est donc attachée à étudier les gènes situés en amont et en aval de p53 afin de « bipasser » la difficulté évoquée précédemment.

30 Afin d'isoler les gènes activés ou inhibés par le p53 normal (wild-type p53) on a effectué un ratissage global de l'expression des gènes dans une lignée maligne (K562) et une cellule dérivée (KS) avec une suppression du phénotype

malin, plus particulièrement dans une cellule exprimant le p53 normal (KS) dans sa fonction et dans une cellule n'exprimant pas de p53 (K562). La comparaison des gènes exprimés (ARN messagers exprimés dans les deux types de cellule) a permis de mettre en évidence des gènes exprimés différemment, c'est-à-dire
5 exprimés dans l'une des cellules alors qu'ils ne le sont pas dans l'autre (les gènes peuvent être activés ou inhibés).

On en déduit aisément que ces gènes sont impliqués dans le processus de cancérisation, dans un cas par leur absence, et, dans l'autre cas, par leur présence.

Pour cette étude différentielle, la méthode utilisée est la méthode décrite en
10 1992 par Liang et Pardee (Differential display of eucaryotic mRNA by means of a polymerase chain reaction).

L'approche du problème selon la présente invention a permis d'isoler des séquences directement reliées à une fonction. Dès lors, au contraire du séquençage aléatoire des EST, les séquences sont des séquences dont la fonction est connue et
15 qui sont impliquées dans le processus de suppression du phénotype malin et/ou d'apoptose induit par le gène suppresseur p53 et/ou dans la résistance aux virus.

Ainsi, la présente invention concerne de nouvelles séquences et les gènes les comportant ainsi que l'utilisation de ces séquences, tant au niveau du diagnostic qu'au niveau de la thérapie, de même que pour la réalisation de modèles destinés à
20 tester des produits anti-cancéreux et anti-viraux.

La présente invention concerne tout d'abord une séquence nucléotidique correspondant à un gène comportant :

- (a) une séquence selon l'une des IND.SEQ 1 à 15 ou un gène équivalent qui comporte:
- 25 (b) une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a),
- (c) une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec (a) ou (b), ou
- (d) une séquence codant pour une protéine codée par un gène selon (a), (b) ou (c) ou pour une protéine équivalente,

et leur application notamment dans la suppression du cancer et/ou la résistance
30 aux virus ainsi que dans le suivi thérapeutique.

Il convient de rappeler que les séquences 1 à 15 ne constituent qu'une partie des gènes en cause mais que la présente invention couvre aussi bien la

séquence nucléotidique correspondant au gène entier que des fragments de ce gène, notamment lorsqu'ils codent pour une protéine équivalente comme cela sera décrit ci-après.

Les séquences nucléotidiques peuvent être aussi bien de l'ADN que de l'ARN ou des séquences dans lesquelles certains des nucléotides sont non naturels, soit pour améliorer leurs propriétés pharmacologiques, soit pour permettre leur identification.

Les séquences mentionnées en (b) sont essentiellement les séquences complémentaires totales ou partielles (notamment pour les cas évoqués précédemment).

Ainsi, l'invention concerne également les séquences nucléotidiques des gènes présentant une forte homologie avec les gènes mentionnés précédemment, de préférence une homologie supérieure à 80 % sur les parties essentielles desdits gènes, soit en général au moins 50 % de la séquence, de préférence l'homologie sera sur ces parties supérieure à 90 %.

Enfin, lorsque lesdits gènes codent pour une protéine, la présente invention concerne également les séquences codant pour la même protéine, compte tenu de la dégénérescence du code génétique, mais également pour les protéines équivalentes, c'est-à-dire produisant les mêmes effets, notamment les protéines délétées et/ou ayant subi des mutations ponctuelles.

Les séquences selon la présente invention sont plus particulièrement les séquences qui sont induites ou inhibées lors de l'apoptose cellulaire, notamment celles induites par p53 et/ou p21 et/ou TSAP3 (HUMSIAH) et/ou antisens-TSIP2 (antisens-PS1). En d'autres termes, ces séquences correspondent à des gènes dont l'expression cellulaire est activée par l'un au moins des transfectants choisi dans le groupe comprenant les transfectants p21, les transfectants TSAP3 et les transfectants anti-sens TSIP2.

Lesdits gènes sont regroupés en TSAP ou "Tumor Suppressor Activated

Pathway", et dénommés de TSAP 9 à TSAP 22 correspondant aux IND.SEQ 1 à 14, et en TSIP ou "Tumor Suppressor Inhibited Pathway", et dénommé TSIP 3, correspondant à IND.SEQ 15.

5 Les caractéristiques des séquences sont rassemblées dans les tableaux ci-annexés.

Les séquences nucléotidiques correspondant aux gènes TSAP sont des séquences exprimées lors du processus d'apoptose alors que lorsqu'ils ne sont pas exprimés le processus d'oncogénèse se poursuit. Il est donc intéressant:

- de détecter toute anomalie dans le gène correspondant, laquelle peut conduire à
- 10 une plus grande susceptibilité à l'oncogénèse, et
- de pouvoir prévoir une thérapie de remplacement.

Il faut d'ailleurs rappeler que ces gènes peuvent intervenir dans d'autres processus que les processus de suppression tumorale ; en effet, p53 est en quelque sorte le gardien de l'intégrité du génome, dans ces conditions les gènes TSAP ou

15 TSIP sont sans doute également impliqués dans cette fonction de contrôle, c'est donc l'ensemble des altérations possibles du génome qui peuvent être redevables de la détection et de la thérapie précédente. Au contraire, les gènes TSIP sont exprimés lors de l'oncogénèse et cette expression est diminuée voire inhibée lors de l'apoptose et de la suppression tumorale, il est donc là aussi intéressant de

20 détecter l'éventuelle anomalie des TSIP et également de prévoir une thérapie d'inhibition/blocage.

La thérapie de remplacement pourra être effectuée par thérapie génique, c'est-à-dire en introduisant le gène TSAP avec les éléments qui permettent son expression in vivo. Les principes de la thérapie génique sont connus. On peut

25 utiliser des vecteurs particuliers, viraux ou non viraux, par exemple des adénovirus, rétrovirus, virus herpès ou poxvirus. La plupart du temps ces vecteurs sont utilisés sous forme défectifs qui serviront de véhicules d'expression de TSAP avec ou sans intégration. Les vecteurs peuvent être également synthétiques, c'est-à-dire mimer des séquences virales, ou bien être constitués par de l'ADN ou de

30 l'ARN nu selon la technique développée notamment par la société VICAL.

Dans la plupart des cas, il faudra prévoir des éléments de ciblage assurant une expression tissus ou organes spécifiques, en effet, il n'est pas possible d'envisager d'activer un phénomène d'apoptose incontrôlé.

La présente invention concerne donc l'ensemble des vecteurs décrits
5 précédemment.

La présente invention concerne également les cellules transformées par un vecteur d'expression tel que décrit précédemment ainsi que la protéine pouvant être obtenue par culture de cellules transformées.

Les systèmes d'expression pour produire des protéines peuvent être aussi
10 bien des systèmes eucaryotes tels que les vecteurs précédents que des systèmes procaryotes dans des cellules de bactéries.

I.'un des intérêts de la présente invention est qu'elle a mis en évidence l'implication de plusieurs gènes dans l'apoptose ; ainsi, la surexpression de l'un des gènes par thérapie génique peut, pour certains d'entre eux, ne conduire à
15 l'apoptose que les cellules dans lesquelles s'expriment déjà d'autres gènes déréglés, c'est-à-dire des cellules malignes.

La présente invention concerne également, à titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques précédentes lorsqu'elle est induite lors de l'apoptose et/ou de la
20 suppression tumorale, notamment des gènes TSAP 9 à TSAP 22, ou au contraire assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins une séquence cellulaire telle que décrite précédemment lorsqu'elle est inhibée lors de l'apoptose et/ou de la suppression tumorale, notamment TSIP 3. Il peut s'agir par exemple d'un nucléotide activé assurant le blocage de la séquence nucléotidique ou encore d'un
25 anticorps monoclonal dressé contre la ou les protéine(s) codée(s) par la séquence nucléotidique.

Par ailleurs, il est possible de prévoir d'autres approches que la thérapie génique, notamment l'utilisation de séquences nucléotidiques en stratégie sens ou antisens, c'est-à-dire pouvant bloquer l'expression de TSIP ou au contraire,
30 agissant en amont, favorisant l'expression de TSAP.

On peut également prévoir une stratégie de remplacement directe par apport de protéines correspondant à TSAP ou d'anticorps inhibiteurs

correspondant à TSIP.

Enfin, il est possible de prévoir l'utilisation de molécules non protéiques dont l'activité sera d'activer TSAP ou de mimer l'action de son produit d'expression ou bien d'inhiber TSIP ou bien de bloquer l'action de son produit d'expression.

Ces produits peuvent être aisément testés sur les cellules modifiées qui sont décrites dans les exemples en introduisant les produits à tester dans la culture cellulaire et en détectant l'apparition du phénomène apoptotique. Dans les stratégies à ADN, ARN ou protéique les produits sont bien entendu élaborés en fonction des séquences qui sont décrites.

La présente invention concerne en particulier l'utilisation des médicaments précédents en tant qu'agent anti-cancéreux.

Mais le produit des gènes TSAP 9 à 22 et TSIP 3 est également utile comme agent antiviral, comme cela apparaîtra à la lecture de l'exemple.

La présente invention concerne donc également l'utilisation des médicaments précédents comme agent antiviral.

De plus, la présente invention concerne à titre d'agent de diagnostic pour la détermination de la prédisposition au cancer, tout ou partie des séquences selon l'invention à utiliser comme sonde nucléotidique ou comme amorce d'amplification, mais également à titre d'agent de diagnostic pour la détermination de la prédisposition au cancer un antigène correspondant à tout ou partie des protéines codées par la séquence selon l'invention ou les anticorps correspondants, éventuellement après culture.

Les méthodes de diagnostic sont connues, il peut s'agir, par exemple, de techniques de microséquençage des parties variables après isolement et amplification éventuelle, ou des méthodes de détection type RFLP, ou d'amplification simple notamment. Les techniques différentielles peuvent, en particulier, permettre de mettre en évidence l'écart entre le TSAP (ou TSIP) normal et anormal.

L'invention concerne également des modèles mettant en oeuvre les séquences précédentes.

Par ailleurs, il convient de souligner que les inventeurs, ont mis en

évidence, par extension des séquences conformes à l'invention initialement mises en évidence, des homologues présentées par lesdites séquences étendues avec des séquences correspondant à des protéines connues.

Plus particulièrement, outre l'homologie de TSAP 9 avec une chaperonine de souris contenant le gène TCP-1 (9), les inventeurs ont mis à jour une forte homologie que présente TSAP13 avec la sous-unité p40.5 du protéasome humain (10, 11) et une forte homologie que présente TSAP 21 avec la syntaxine 11 appartenant au groupe des protéines SNARE (12).

Les chaperonines interviennent dans le processus de repliement et l'assemblage des protéines dans le cytosol eucaryote. Elles sont soupçonnées de ralentir ce repliement en piégeant des intermédiaires qui s'agrégeraient sans cela. Parmi les protéines sur lesquelles agirait la chaperonine contenant le gène TCP-1 homologue de TSAP 9, on peut citer l'actine, la tubuline et la protéine de capsid du virus de l'hépatite B.

Le protéasome, au même titre que l'ubiquitine, est le principal composant du système protéolytique majeur responsable de la dégradation de nombreuses protéines intracellulaires, y compris de protéines aberrantes résultant de mutations ou de stress environnementaux. La sous-unité p40.5 du protéasome 26S humain a récemment été mise en évidence, ainsi que son homologue chez la levure Nas7p. Chez l'homme, le mRNA correspondant à la susdite sous-unité est plus particulièrement exprimé dans le pancréas, le placenta, les testicules, le cœur et le muscle squelettique. Il semble par ailleurs que les cellules de levures déficientes pour Nas7p soient particulièrement sensibles au stress dû à la chaleur. Ceci contribue à suggérer que la fonction du protéasome 26S est dégradée lors d'un stress dû à la chaleur.

Les protéines SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor-attachment protein receptor) sont des protéines dont l'expression différentielle et les associations sont impliquées dans l'organisation des compartiments membranaires des cellules. Ces protéines sont spécifiquement localisées dans la région de l'appareil de Golgi, des endosomes et des lysosomes, ce qui suggère qu'elles jouent un rôle dans la régulation des échanges membranaires à partir de

ces organelles. Plus particulièrement, la syntaxine 11 serait localisée dans la région post-Golgi.

Il serait intéressant de pouvoir déterminer si les voies moléculaires dans lesquelles sont impliquées les séquences conformes à l'invention présentent des points communs avec les voies moléculaires dans lesquelles sont impliquées les susdites protéines, ce qui permettrait d'envisager de nouveaux modes d'action sur les susdites séquences à des fins par exemple thérapeutiques ou diagnostiques.

La Figure 1 représente la séquence de TSAP 13 étendue (SEQ ID N° 5). La partie soulignée correspond à la séquence telle que mise à jour à l'origine par les inventeurs. Les caractères gras correspondent à la séquence présentant 100 % d'homologie avec la sous-unité p40.5 du protéasome 26S humain.

La Figure 2 représente la séquence de TSAP 21 étendue (SEQ ID N° 13). La partie soulignée correspond à la séquence telle que mise à jour à l'origine par les inventeurs. Les caractères gras correspondent à la séquence présentant 100 % d'homologie avec la syntaxine 11 du groupe des protéines SNARE

D'autres caractéristiques de l'invention apparaîtront à la lecture de l'exemple ci-après.

MATERIELS ET METHODES

Cultures cellulaires

Les cellules K562, KS, KS2 et KS3 ont été utilisées comme modèles. La lignée K562 est une lignée tumorale, dérivée d'une leucémie chronique de type érythromyéloïde. Elle est caractérisée notamment par un chromosome de Philadelphie qui contient la translocation (9,22), où il y a un réarrangement du gène bcr avec le proto-oncogène abl. Cette lignée a par ailleurs un caryotype anormal et surexprime les oncogènes myc et pim-1. Ces lignées sont décrites dans la référence A. Telerman et al. : A model for tumor suppression using H-1 parvovirus, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 90, pp. 8702-8706, September 1993.

En résumé, un monoclonal de K562 a été infecté par le parvovirus H-1. Cette infection a causé une mort massive de la culture cellulaire. Après un maintien de cette culture pendant une période de deux mois, le clone KS a été

isolé. La même expérience effectuée une seconde fois a fourni, après trois mois d'incubation, les clones KS2 et KS3.

En employant la même approche, les inventeurs ont dérivé d'une population de cellules malignes U937 les lignées US3 et US4 qui sont résistantes au parvovirus H-1 et qui présentent une suppression du phénotype malin. Ces lignées sont décrites dans la référence (7).

Des cellules de leucémie myéloïde M1 et des cellules M1 ont été transfectées de façon stable avec un mutant sensible à la température val 135 p53 (LTR6).

Ces cellules sont cultivées sur milieu RPMI 1640 avec 10 % FCS à 5 % de CO₂ à 37°C (3). Pour la modification de la température, les cultures sont placées dans un second incubateur à 32°C.

Lignée U937 transfectée par p21^{WAF1} : la partie codante complète du cDNA du gène p21^{WAF1} a été clonée dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie). 3,5 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20 microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée décrivent notamment une suppression du phénotype malin.

Lignée U937 transfectée par TSIP2 (PS1) en position antisens : la partie codante complète du cDNA du gène TSIP2 (PS1) a été clonée en position antisens dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie). 3 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20 microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée, décrivant notamment un ralentissement de la croissance, une activation de l'apoptose et une suppression du phénotype malin, ont été décrites dans la référence (8).

Lignée U937 transfectée par TSAP3 (HUMSIAH) : la partie codante complète du cDNA du gène TSAP3 a été clonée dans le vecteur pBK-RSV (Stratagene, La Jolla, Californie). 3 millions de cellules U937 ont été transfectées avec 20 microgrammes d'ADN/30 microgrammes Lipofectin (Life Technologies).

Les transfectants stables ont été sélectionnés à l'aide de 1,5 mg/ml de G418 (Sigma). Les caractéristiques de cette lignée, comportent notamment une activation de l'apoptose et une suppression du phénotype malin.

5 Etude des ADNc différentiels

Pour effectuer les tests dans des conditions expérimentales standards et pour obtenir une reproductivité totale des résultats, les modifications suivantes au protocole d'origine (1) ont été effectuées :

On utilise toujours des ARNm polyA⁺ purifiés deux fois sur colonne d'oligodT utilisant Fast Track (Invitrogen, San Diego CA). Après transcription réverse (M-MLV Reverse Transcriptase, Gibco BRL) sur 0,05 µg de polyA⁺ utilisant 20 µM de chacun des dNTP (Boehringer-Mannheim), aucun dNTP additionné n'est ajouté au mélange de PCR final. Un « hot start » à 94°C pendant 5 minutes est effectué avant la PCR (GeneAmp PCR system 9600 Perkin Elmer Cetus). Les échantillons sont refroidis rapidement sur de l'eau glacée. Un « touch down » (2) de 10 cycles de 50°C à 40°C est effectué (94°C 30 secondes – 50°C 1 minute – 72°C 30 secondes), suivi par 35 cycles (94°C 30 secondes – 40°C 1 minute – 72°C 30 secondes) et une extension finale de 5 minutes à 72°C. Les produits de la PCR sont séparés sur gels de polyacrylamide à 6 % non dénaturant (4). Les gels sont exposés sans séchage. Chaque présentation différentielle est effectuée en comparant M1S6 et LTR6 à 37°C et après 4 heures d'incubation des deux lignées cellulaires à 32°C.

La procédure de présentation différentielle est répétée dans 3 expériences différentes pour confirmer une parfaite reproductibilité.

Les bandes exprimées différentiellement sont découpées à partir du gel, éluées et réamplifiées (1). Les produits de PCR sont sous-clonés en utilisant le système TA-cloning (Invitrogen, San Diego CA) en suivant les indications fournies.

Pour chaque réaction de ligation, 10 clones recombinants sont séquencés en utilisant le système automatique ABI.

Extraction des ARN, analyses et sondes Northern blots

L'ARN total est extrait avec du Trizol (Life Technologies). Les ARN poly1+ sont préparés en utilisant le kit OligotexdT (Qjagen, CA). 30 µg de l'ARN total ou 2 µg d'ARN polyA+ sont séparés sur agarose 1 % 1 x MOPS/2 % gel de formaldéhyde, transférés sur membrane de nylon (Hybond N+, Appligène, France) comme cela a été décrit précédemment (5). Les Northern blots sont hybridés avec des sondes marqués au P³² sur les inserts TSAP et TSIP et lavés comme décrit précédemment (5). Pour vérifier l'induction de la fonction du p53 sauvage, les Northern blots sont hybridés avec une sonde cycline G (6). A titre de contrôle pour la quantité d'ARNm chargée, les bts sont hybridés avec une sonde GAPDH. Différents Northern blots (Clontech CA) sont utilisés dans des conditions identiques et hybridés pour contrôle avec une sonde β-actine. Les Northern blots sont exposés pendant 10 jours à - 80°C.

Exemple 1

Le but recherché est de caractériser les voies moléculaires qui mènent à la suppression du cancer.

De façon à élaborer un modèle, on a fait l'hypothèse suivante : s'il était possible de sélectionner, à partir d'une tumeur qui soit sensible à l'effet cytopathique du parvovirus H-1, les cellules qui étaient résistantes, cette résistance pourrait être due à un changement de leur phénotype malin. Ceci a pu être démontré pour les cellules KS sélectionnées à partir des cellules érythro-leucémiques K562. Contrairement à la lignée parentale K562, les clones KS, KS2 et KS3 sont résistants à l'effet cytopathique du parvovirus H-1. En outre, les cellules KS, KS2 et KS3 ont une réduction de leur tumorigénicité de 90 %, alors que cultivées dans du "soft agar", ces mêmes lignées KS ont une réduction de leur tumorigénicité in vivo lorsqu'injectées dans des souris immunodéprimées Scid-Scid. Au niveau moléculaire, on a pu remarquer que cette suppression du phénotype malin allait de pair avec une réexpression du gène suppresseur p53.

15 ADNc exprimés de manière différentielle entre les cellules K562 et KS ont été isolés. TSAP 9 est homologue aux chaperonines.

Le Tableau 1 rassemble les molécules caractérisées, en reprenant les amorces ainsi que les tailles des mRNAs détectés par Northern blot.

De ces 15 molécules, toutes sont induites dans les cellules KS, hormis TSIP 3, dont l'expression est inhibée durant la suppression du phénotype malin.

Dans des expériences de transfection, on a également pu démontrer que la résistance à l'effet cytopathique du parvovirus H-1 allait de pair avec une fonction
5 intacte du gène p53 et que des cellules transfectées avec des mutants p53 devenaient sensibles à l'effet cytopathique du parvovirus H-1.

Les 15 molécules que nous avons isolées codent donc des gènes dont la surexpression (TSAP 9 – TSAP 22) ou l'inhibition (TSIP 3) est associée non
10 seulement à la suppression du cancer mais également à la résistance au parvovirus H-1. Ces gènes codent par conséquent pour des molécules faisant partie des voies moléculaires de la suppression du cancer et sont de potentiels gènes suppresseurs.

Afin de mieux cerner les voies d'activation p53/p21, les inventeurs ont étudié :

- 15 - l'activation de ces TSAP / inhibition des TSIP dans le modèle p53 thermosensible développé dans Moshe Oren,
- l'activation de ces TSAP / inhibition des TSIP dans le modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène p21,
- l'activation des nouveaux TSAP / inhibition des TSIP dans le modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène TSAP3, et
- 20 - l'activation de ces nouveaux TSAP/TSIP dans le modèle où les cellules U937 sont transfectées par le gène TSIP2 (PS1) en position antisens.

Le Tableau 1 ci-après rend compte de résultats d'expressions différentielles analysées par Northern blot des différentes sondes (TSAP9-TSAP22, TSIP3) du modèle K562/KS ainsi que des autres modèles U937/US3-
25 US4, c'est-à-dire dans un modèle de suppression tumorale dans lequel le gène p21 est activé par la voie p53 indépendante. Ces ADNc sont donc activés dans deux systèmes cellulaires différents de suppression tumorale (le modèle d'érythroleucémie K562/KS et le modèle myélomonocytaire U937/US).

D'après ce tableau, on constate que dans la majeure partie des cas, les
30 gènes exprimés différemment dans le modèle K562/KS sont également exprimés différemment dans le modèle U937/US3-US4. Il existe donc une machinerie moléculaire de la suppression tumorale commune à différents types de

cancer. Cette conclusion est également valable pour le modèle M1/LTR-6. Il faut noter dans ce dernier cas que l'absence de signaux dans certains TSAP-TSIP est probablement due au fait que les expérimentations ont été réalisées dans deux systèmes hétérologues (des sondes humaines sur de l'ARN de souris).

TABLEAU 1

| CLONE A EXPRESSION DIFFERENTIELLE | AMORCES 3' ET 5' * | SONDE ADN _c K562/KS | HOMOLOGIE | MODELE K562/KS |
|---|-----------------------|-----------------------------------|------------------------|-------------------|
| | | | | mRNA kb |
| TSAP 9 | T11AA-9 | K26 D3 | Chaperonine \diamond | 2,6 |
| TSAP 10 | T11AA-9 | K25.0 A11 | | 1,6 |
| TSAP 11 | T11AA-9 | K25.0 B7 | EST | 2,9 |
| TSAP 12 | T11AA-9 | K27.1 C7 | EST | 5,5 |
| TSAP 13 | T11AA-23 | K25.1 F3 | Protéasome $^\circ$ | 1,8 |
| TSAP 14 | T11AC-5 | K33.2 F10 | EST | 2,5 |
| TSAP 15 | T11AG-19 | K22 E3 | EST | 1,6 |
| TSAP 16 | T11GC-2 | K12.1 F5 | | 2,8 |
| TSAP 17 | T11GC-12 | K16.1 C7 | | 1,8 |
| TSAP 18 | T11GG-5 | K3.1 D2 | EST | 2,0 |
| TSAP 19 | T11GG-23 | K5.2 E 10 | EST | 1,5 |
| TSAP 20 | T11GG-23 | K5.1 A12 | | 1,7 |
| TSAP 21 | T11GG-23 | K5.1 A1 | SNARE $^\Delta$ | 2,1 |
| TSAP 22 | T11GG-5 | K3.1 A12 | EST | 2,8 |
| TSIP 3 | T11AC-5 | K33.1 B11 | EST | 9,5 |

* les chiffres et les séquences des amorces en 5' correspondent à ceux rapportés
5 par Bauer et al.

\diamond HUMKG1DD ARNm humain pour l'ORF (équivalent humain de la chaperonine de souris contenant le gène TCP-1 (t-complexe polypeptide).

$^\circ$ Sous unité p40.5 du Protéasome (Nas7p)

$^\Delta$ Syntaxine 11 SNARE

TABLEAU 1 (suite)

5

| CLONE A EXPRESSION DIFFERENTIELLE | MODELE U937/US3-US4 | |
|---|---------------------|---------|
| | RESULTAT | mRNA kb |
| TSAP 9 | EXP. DIFF. | 2,0 |
| TSAP 10 | EXP. DIFF. | 1,6 |
| TSAP 11 | NO EXP. DIFF. | 2,8 |
| TSAP 12 | NO SIGNAL | 5,5 |
| TSAP 13 | EXP. DIFF. | 1,5 |
| TSAP 14 | EXP. DIFF. | 2,8 |
| TSAP 15 | EXP. DIFF. | 1,8 |
| TSAP 16 | EXP. DIFF. | 2,0 |
| TSAP 17 | EXP. DIFF. | 1,9 |
| TSAP 18 | NO EXP. DIFF. | 1,8 |
| TSAP 19 | EXP. DIFF. | 1,6 |
| TSAP 20 | EXP. DIFF. | 1,9 |
| TSAP 21 | EXP. DIFF. | 1,9 |
| TSAP 22 | EXP. DIFF. | 2,6 |
| TSIP 3 | EXP. DIFF. | 9,5 |

| CLONE A EXPRESSION DIFFERENTIELLE | MODELE M1/LTR-6 | |
|---|-----------------|---------|
| | RESULTAT | MRNA kb |
| TSAP 9 | EXP. DIFF. | 2,6 |
| TSAP 10 | NO SIGNAL | 1,6 |
| TSAP 11 | NO SIGNAL | 2,9 |
| TSAP 12 | NO SIGNAL | 5,5 |
| TSAP 13 | EXP. DIFF. | 1,8 |
| TSAP 14 | EXP. DIFF. | 2,5 |
| TSAP 15 | NO SIGNAL | 1,6 |
| TSAP 16 | EXP. DIFF. | 2,8 |
| TSAP 17 | EXP. DIFF. | 1,8 |
| TSAP 18 | EXP. DIFF. | 2,0 |
| TSAP 19 | NO SIGNAL | 1,5 |
| TSAP 20 | NO SIGNAL | 1,7 |
| TSAP 21 | EXP. DIFF. | 2,1 |
| TSAP 22 | EXP. DIFF. | 2,8 |
| TSIP 3 | NO SIGNAL | 9,5 |

EXP DIFF. = Expression différentielle

NO EXPR. DIFF. = Pas d'expression différentielle

Le Tableau 2 ci-après résume l'expression différentielle de certains clones TSAP et TSIP dans différentes lignées de transfectants.

Il se dégage de ce tableau que, dans la majeure partie des cas, les transfectants p21 ou transfectants TSAP3 ou transfectants antisens-TSIP2 sont capables d'activer la machinerie moléculaire de la suppression tumorale commune aux systèmes U937/US et K562/KS.

TABLEAU 2

10

| CLONE | TRANSFECTANTS P21 EXPRESSION DIFFERENTIELLE | TRANSFECTANTS TSAP3 EXPRESSION DIFFERENTIELLE | TRANSFECTANTS TSIP2 ANTISENS EXPRESSION DIFFERENTIELLE |
|--------|---|---|---|
| TSAP9 | OUI | OUI | OUI |
| TSAP10 | OUI | OUI | OUI |
| TSAP11 | NON | NON | NON |
| TSAP12 | NON | NON | NON |
| TSAP13 | OUI | OUI | OUI |
| TSAP14 | OUI | OUI | OUI |
| TSAP15 | OUI | OUI | OUI |
| TSAP16 | NON | OUI | NON |
| TSAP17 | OUI | NON | NON |
| TSAP18 | NON | OUI | OUI |
| TSAP19 | NON | NON | NON |
| TSAP20 | OUI | NON | OUI |
| TSAP21 | OUI | OUI | OUI |
| TSAP22 | OUI | OUI | OUI |
| TSIP3 | OUI | OUI | OUI |

Le Tableau 3 ci-après récapitule les caractéristiques d'expression différentielle des clones d'ADNc par Northern blot.

5

TABLEAU 3

| cDNA clones | mRNA kb | HOMOLOGIE | K562/K | U937/US | U937 p21 | U937 AS PS1 | U937 SIAH/TSAP3 |
|-------------|---------|------------------------|--------|---------|----------|-------------|-----------------|
| TSPA9 | 2,6 | Chaperonine \diamond | D | D | D | D | D |
| TSAP10 | 1,6 | EST | D | D | D | D | D |
| TSAP11 | 2,8 | EST | D | N | N | N | N |
| TSAP12 | 5,5 | EST | D | N | N | N | N |
| TSAP13 | 1,8 | Protéasome $^\circ$ | D | D | D | D | D |
| TSAP14 | 2,5 | EST | D | D | D | D | D |
| TSAP15 | 1,6 | EST | D | D | D | D | D |
| TSAP16 | 2,5 | NO | D | D | N | N | D |
| TSAP17 | 1,8 | NO | D | D | D | N | N |
| TSAP18 | 2,0 | EST | D | N | N | D | D |
| TSAP19 | 1,5 | EST | D | D | N | N | N |
| TSAP20 | 1,7 | NO | D | D | D | D | N |
| TSAP21 | 2,1 | SNARE $^\Delta$ | D | D | D | D | D |
| TSAP22 | 2,6 | EST | D | D | D | D | D |
| TSIP3 | 9,5 | EST | D | D | D | D | D |

D : Expression différentielle

10 N : Pas d'expression différentielle

\diamond : Chaperonine contenant le gène TCP1

$^\circ$: Sous unité p40.5 du protéasome (Nas 7p)

$^\Delta$: Syntaxine 11 SNARE

REFERENCES

- (1) Liang P. & Pardee A.B. (1992) *Science*, 257, 967-971
- (2) Don R.H., Cox P.T., Wainwright B.J., Baker K. & Mattick J.S. (1991) *Nucl.*
5 *Acids Res.*, 19, 4008
- (3) Yonish-Rouach E., Resnitzky D., Lotem J., Sachs L., Kimchi A. & Oren M.
(1991) *Nature* 352, 345-347
- (4) Bauer D., Muller H., Reich J., Riedel H., Ahrenkiel V., Warthoe P. &
Strauss M. (1993) *Nucl. Acids Res.* 21, 4272-4280
- 10 (5) Sambrook J., Fritsch E.F. & Maniatis T. (1989) *Molecular Cloning : a
laboratory manual*
- (6) Okamoto K. & Beach D. (1994) *EMBO J.*, 13, 4816-4822
- (7) Nemani M., Linares-Cruz G., Bruzzoni-Giovanelli H., Roperch J.-P.,
Tuynder M., Bougueleret L., Cherif D., Medhioub M., Pasturaud P., Alvaro
15 V., Der Sarkissian H., Cazes L., Le Paslier D., Le Gall I., Israeli D., Dausset
J., Sigaux F., Chumakov I., Oren M., Calvo F., Amson R. B., Cohen D. and
Telerman A., Activation of the human homologue of the *Drosophila* *sina*
gene in apoptosis and tumor suppression, *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* (1996)
93, 9039-9057
- 20 (8) Roperch J.-P., Alvaro V., Prieur S., Tuynder M., Nemani M., Lethrosne F.,
Piouffre L., Gendron M-G., Israeli D., Dausset J., Oren M., Amson R., and
Telerman A., Inhibition of presenilin 1 expression is promoted by p53 and
p21 WAF-1 and results in apoptosis and tumor suppression, *Nature
Medicine* (1998) 4, 835-838.
- 25 (9) Kubota et al., 1995, *Eur. J. Biochem.* 230, 3-16,
(10) Hori et al., 1998, *Gene*, 216, 113-122,
(11) Baumeister et al., 1998, *Cell*, Vol. 92, 367-380,
(12) Advani et al., 1998, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 273, N° 17,
10317-10324.

REVENDICATIONS

- 1) Séquence nucléotidique correspondant à un gène comportant:
- 5 (a) une séquence selon l'une des IND.SEQ 1 à 15 ou
un gène équivalent qui comporte:
- (b) une séquence s'hybridant avec l'une des séquences selon (a),
- (c) une séquence présentant au moins 80 % d'homologie avec (a) ou (b), ou (d) une séquence
caractérisée en ce que l'expression cellulaire du gène est induite ou inhibée lors de
10 l'apoptose et/ou suppression tumorale.
- 2) Séquence selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'apoptose
et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.
- 3) Séquence selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce
qu'elle est choisie parmi TSAP 9 à TSAP 22 ou un gène équivalent.
- 15 4) Séquence selon la revendication 3, caractérisée en ce que l'apoptose
et/ou la suppression tumorale est(sont) induite(s) par p53 et/ou p21.
- 5) Séquence selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle
correspond au gène TSIP 3 ou un gène équivalent.
- 6) Séquence selon la revendication 5, caractérisée en ce que
20 l'expression cellulaire du gène est inhibée lors de l'apoptose et/ou la suppression
tumorale.
- 7) Séquence selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce
que l'expression cellulaire du gène est activée par l'un au moins des transfectants
choisi dans le groupe comprenant les transfectants p21, les transfectants TSAP3 et
25 les transfectants antisens TSIP2.
- 8) Vecteur d'expression cellulaire d'une séquence selon l'une des
revendications 1 à 7.
- 9) Vecteur d'expression selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il
s'agit d'un vecteur viral.
- 30 10) Vecteur selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un
adénovirus, d'un rétrovirus, d'un virus herpès ou d'un poxvirus.
- 11) Vecteur selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'il s'agit d'un

vecteur à acide nucléique nu.

12) Vecteur selon l'une des revendications 8 à 11, caractérisé en ce qu'il comporte une séquence assurant le ciblage et/ou l'expression tissu spécifique.

13) Cellule transformée par un vecteur d'expression selon l'une des revendications 8 à 12.

14) Protéine pouvant être obtenue par culture de cellule transformée selon la revendication 13 et codée par la séquence selon l'une des revendications 1 à 7.

15) A titre de médicament, un vecteur selon l'une des revendications 8 à 12 ou une protéine selon la revendication 14.

16) A titre de médicament, un composé assurant l'expression cellulaire d'au moins une des séquences nucléotidiques selon l'une des revendications 1 à 3 ou de leurs produits.

17) A titre de médicament selon la revendication 15, un vecteur nucléotidique assurant l'expression cellulaire de ladite séquence.

18) A titre de médicament, un composé assurant l'inhibition de l'expression cellulaire d'au moins un gène cellulaire selon l'une des revendications 1, 5 à 7 ou de leurs produits.

19) A titre de médicament selon la revendication 18, un nucléotide activé assurant la blocage de la séquence nucléotidique.

20) A titre de médicament selon la revendication 18, un anticorps monoclonal dressé contre la ou les protéines codées par la séquence nucléotidique.

21) A titre de médicament destiné au traitement du cancer, un médicament selon l'une des revendications 15 à 20.

22) A titre d'agent antiviral, un médicament selon l'une des revendications 15 à 20.

23) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivi des cancers, tout ou partie des séquences selon l'une des revendications 1 à 7 à utiliser comme sonde nucléotidique ou comme amorce d'amplification.

24) A titre d'agent de diagnostic, notamment pour la détermination de la prédisposition et le suivi des cancers, un antigène correspondant à tout ou

partie des protéines codées par la séquence selon l'une des revendications 1 à 7 ou les anticorps correspondants.

25) Modèle pour la mise en évidence de médicament anti-cancéreux, et/ou antiviral des cellules selon la revendication 13.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAACAAGCAGAGGGGTTTATTATAGGAAC
ATTCTCAAACTGCAACGGAAAAGATGTCCGTACAGGTGGATGGGGATGGAG
ATCCACCTCGGAGTACACAGACTTCAGGGGGCCTCCTGCCTGGCACGTTCTT
TCTCTCCCGTATCACCTAAGACCCTGAGACCTCCACCCTCTGCAGGAGAGAC
CCACAAAGAAGCCTCCTCCCTGTGGCCTGGCTCCCATCAGGGACAGTCCTGT
TTTTAGAGCAAGAACAGTCTGTACTTCAGACAGGATCCCAACCCCCACCCAA
ATTCAATGTCGACCGTCTGAGCAGCCAGCTTCATTGGCTGCAAACGCCTCTC
TCAGGTGAGTCAAAGGAGACACGACGGGGAACCAGGGGGCCCTAGGTGAGG
ATGTCATGGGCCTGGTGCTCCACCAGCATCTCCATGCTCTTCACATCCGTGC
ACCAGAACTCCAGGCGGTCTTTCATTCCCTTGATCTGTTGCAAATCCAACAC
TCGGGGCTGCACCCAGGTCATGTGGACTCGTTTGTCCACCTCGTCTATACTG
CCTTTCACCAGCCCCACCGAAAGGGCCTTCATCACCAGAAGCTCCACCTCAT
TCACTGTGATTTTAGCACTTTTGGCAATTTCTTCAAAAGTGAGTTGTCTGTGA
TTGGCAGGTCTGTGTGAAAGTCATCTCCATGAGGCACAACAAGTGAATTTTCC
TCAGAAAGCTGGGCTTCATTAGCTGCTAAATCAGGCTGCTGGCCCCAGGCAGT
CTTCAGAGTCTGGAACCGCTCTACGTTGCCACTGTTGAAGGCATAGAGGGTG
TCAATCAGCCACTGCCGGTCAGTATTCCTCAGGGACTCCAGCACAGGGTGCA
TGAGGAGTTCTCCAAAGTTAAAAACTCCCTCGCCGAGAAGTCCTGCTAGCCC
CAGCGTGAAGGCTCTCTCCTGCTGCTCAGACACTGGTAGATCCTTGATGTCA
ACACAGCCCCAAAAACCGCAGAGCATCTTTGTAGTAGGACGCGTGGTTTCCGA
TTGTTTGATAGTATTTACTGGAGAGATCATAGAAACGACTGTGAACCGATGT
CACACCAGGAAGGTTGTTGAGCATTTCTTCAACATCTTCAATTGTTTCCTTTG
TAACCTGTAGGTCCCCGATGTTTAATTTTAGAGCTCCAATTGCTGTTTTACAC
AGGATCACTGCCTCATCACTACTTTTCACCTTCTCACGAGTCTTTTCCAGAAA
AGTAAGAGCCACATTAGGATCAGTCATCTGTCTAACTACGTGAAGAATGATT
TCCACGAGGGACAGAGGATTACCCTGTGTTCAAATTCAGTATAAAGTTTT
CATAAAGCTTAATGAGACCATCTCCTTGGGCAAAGCACGGATCCTGCACAAA
ATCAAGCACCTGAAGTGTGAGCTGATGCCACAACCTTCTTCGTGTAGAGCTCC
TCCAGACGGTGCCACACAGCGGGCTGCCCGGGCCCGGAGCTCTGGCTCTGC
TGTAGGAAGCCCGGTACGTCCTTCATGACAGCAGG

FIGURE 1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ATCCAGCGCCAGCTGGAGATCATGGGCAAGGAAGTCTCGGGCGACCAGATC
GAGGACATGTTGAGCAGGGTAAGTGGGACGTGTTTTCCGAGAACTTGCTG
GCCGACGTGAAGGGCGCGCGGGCCGCCCTCAACGAGATCGAGAGCCGCCAC
CGCGAACTGCTGCGCCTGGAGAGCCGCATCCGCGACGTACACGAGCTCTTC
TTGCAGATGGCGGTGCTGGTGGAGAAGCAGGCCGACACCCTGAACGTCATC
GAGCTCAACGTACAAAAGACGGTGCCTACACCGGCCAGGCCAAGGCGCAG
GTGCGGAAGGCCGTGCAGTACGAGGAGAAGAACCCTGCCGGACCCTCTGC
TGCTTCTGCTGTCCCTGCCTCAAGTAGCAGGCCGGCCCGGGCCGCCACCGC
CCATCCCAGACCATGGAGCGCGCTGGGAAGGACGTCACCAAAGCCGGGAGC
TCTGCCCTGCAGGGAGTTGCCCCAACCCCTTCCGGAACTCAGTCTTTAGAAA
AGAAACGCCAGGTTCAAGAATTGCAAACCAGCCTGTGCTTGGAAGATGGTT
AGTTGATACCGTCCGATGATTCTTCAGTAAAGATAGATTCCCACAAAGTTGTG
CAATGTCATTATATGACACCTTGCACTCTTACCGTCTTGACAGAAGCCAAGTAAGG
AACTGAAGTTGTATCTGACTGTAGGGTGAATGTCTGAGGCCTGCCTCCTAATAAA
GACTCAAGGAGGAAGTCAATTGGGCATCTGCTAATAGAATGAACTCATGATGGAA
ACTTCAGTTCATTTACTTTGTCCCTGAAAATTCCCTGGTTCTGTTCCATTTTGAGCG
AAATTGGCCTTGGGAAAAACCACGTTCTTCCTTCCGATTCTTCATCCGGTCTACG
GCTATGCAATTCCTCCCCAAATATAGATCTTATTTCTGCTCATTTCCCTACTTATT
AAAATCACACCAAACACTTACTATTTTCTTATCTCTTTCACTTTTTAAATATCTTTC
ACCAGGTTATATTTTGGTATTATTTTTCCAAACATTTTAAAGCACTGAATATCGAA
CAAGCACTCAAATTGAAGTATCAGTCATGTTTTGTGTATTTTTCGCTGATAAAAAT
TATTTAACATTTATATTTTACTTGATTACATATGCACATGTATGTAAATGTAAAAT
ACTAATATTCATAATATATGTACATAATGATCAATTGGTTTAACTTCTTTTATGTA
AGTATGGTATATAAATTTCAAGACGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAAA

FIGURE 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

LISTAGE DE SEQUENCES

<110> FONDATION JEAN DAUSSET (CEPH)

<120> SEQUENCES ASSOCIEES A LA SUPPRESSION DES CANCERS ET A LA
RESISTANCE AU PARVOVIRUS H-1

<130> D16333

<160> 15

<170> PatentIn Vers. 2.0

<210> 1

<211> 303

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TSAP9

<400> 1

```

tcggtcatag tctggatggg attcatgata tgaagcaaca gcatgtcata gaaaccttga 60
ttggcaaaaa gcaacagata tctcttgcaa cacaaatggg tagaatgatt ttgaagattg 120
atgacattcg taagcctgga gaatctgaag aatgaagaca ttgagaaaac tatgtagtaa 180
gateccacttc tgtgattaag taaatggatg tctcgtgatg cgtctacagt tatttattgt 240
tacatccttt tccagacact gtagatgcta taataaaaaat agctgttttg ttaaaaaaaaa 300
aaa 303

```

<210> 2

<211> 1356

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TSAP10

<400> 2

```

tgagcagggc gacggcgggc gtggaacctg cggggctggg gcgcccgcac gggcgccctgc 60
actgcactga ggaccgggtg ccggaccggg gggcggcgac atgcagcagc tgaaccagct 120
gggcgcgcac gagttctcag ccctgacaga ggtgcttttc cacttcctaa ctgagccaaa 180
agaggtggaa agatttctgg ctcagctctc tgaatttgcc accaccaatc agatcagtct 240
tggctccctc agaagcatcg tgaaaagcct ccttctgggt ccaaattggg ctttgaagaa 300
gagtctcaca gccaagcagg tccaggcgga ttccataact ctgggtctta gtgaggagaa 360
agccacttac ttttctgaaa agtggaagca gaatgctccc acccttgctc gatgggccat 420
aggctcagact ctgatgatta accagctcat agatatggag tggaaatttg gagtgacatc 480
tgggagcagc gaattggaga aagtgggaag tatattttta caactaaagt tgggtgggttaa 540
gaaaggaaat caaaccgaaa atgtgtatat agaattaacc ttgcctcagt tctacagctt 600
cctgcacagat atggagcgag tcagaaccag catggagtgt ttctgctgat ttctgtccct 660
gcactctccc tggccccgtt ccctgccctc ctcccctccc tgggtgactg ctctgagagg 720
cacttcactc acaggcctgt gggatgctcc atggggccct gctggctcca tggggccag 780
gtgcaaaggg tttctgaaaa acagcaggat taagtactga aagagcccaa cacaattacc 840
ctgtaaaact tctgttaggg caaccaccac cacctgtctt ccaggacaca tttttagata 900
ctctgacagg ccaactgcac tcagattcag gggagaaaat aagttgtcac ctccccttca 960
aagttccaga gtaaaacaaat ggtgccatca ttcaagataa catgctgatc accctcctcc 1020
caaaaagcaa gagcttggtt atggctgagg aatcggcgga ttgtctgaat gacacatata 1080
cagagccccc acggatttct gcacactctg ggtctgtgct ggtggaacat tgccaatcag 1140

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

```

ttcttaatga ggcacctgtg tgtaaataca tgcttggctc tctctgcaga gaactgaggc 1200
taaactctgt ccctacttct gggttttggc tgcatgtcg taacgaggtg ggccttttga 1260
ggccatttta gtttgagttc gaaccaacca cctctgttgg ttagatgatg aataaaaagg 1320
ttctgaagaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1356

```

```

<210> 3
<211> 100
<212> ADN
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<223> TSAP11

```

```

<400> 3
tcggtcatag cggttccaag attagcttct actgcttcct gtagcttggc taatatactc 60
tgctttacag ctgatgatat ggtgttggtta aaaaaaaaaa 100

```

```

<210> 4
<211> 467
<212> ADN
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<223> TSAP12

```

```

<400> 4
tcggtcatag taaattcagc atgaaagaga atattacaga aaagacagca gcagaagcat 60
tagcattatc taatatttat atatgttata aacataacac agcagtaaaa ggtttaaatg 120
catatcaatg ggtaccatgt ctaaaaatta ctatagtacc tatttagtgt attggatatt 180
tttcttaaag agtggttgct gtaactagaa cagcataata catgatttag tacagttaat 240
tcttattgat taaataatgt atttatgtac tgaagaaagt gaaaaggaga cagatatttt 300
ttgcttcatt ttgattccag atttaacatt taaatgaaga ttccaaagga ccatgacatg 360
tcattattta actgaaatgg gcttcaaaat atttaaaaga cggatgatt tgtatctaaa 420
cagcaagggtg gcaccagata cacgtaatgc tactggccta tgaccga 467

```

```

<210> 5
<211> 1547
<212> ADN
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<223> TSAP13 HOMOLOGUE PROTEASOME

```

```

<400> 5
tttttttttt tttttttttt ttttttaaca aagcagaggg gtttattata ggaacattct 60
caaactgcaa cggaagagat gtccgtacag gtggatggg atggagatcc acctcggagt 120
acacagactt cagggggcct cctgcctggc acgttcttct tctcccgat cacctaagac 180
cctgagacct ccaccctctg caggagagac ccacaaagaa gcctcctccc tgtggcctgg 240
ctcccatcag ggacagtcct gtttttagag caagaacagt ctgtacttca gacaggatcc 300
caacccccac ccaaattcaa tgtcgaccgt ctgagcagcc agcttcattg gctgcaaacg 360
cctctctcag gtgagtcaaa ggagacacga cggggaacca gggggccta ggtgaggatg 420
tcatgggcct ggtgctccac cagcatctcc atgctcttca catccgtgca ccagaactcc 480
aggcggctct tcattccctt gatctgttgc aaatccaaca ctcggggctg caccaggtc 540
atgtggactc gtttgtccac ctctgtctata ctgcctttca ccagccccac cgaaagggcc 600
ttcatcacca gaagctccac ctcatctact gtgatttttag cacttttggc aatttcttca 660
aaagttagtt gtctgtgatt ggcaggtcgt gtgaaagtca tctccatgag gcacaacaac 720
tgaattttcc tcagaagctg ggcttcatta gctgctaaat caggctgctg gcccaggca 780
gtcttcagag tctggaaccg ctctacgttg ccactgttga aggcatagag ggtgtcaatc 840

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

```

agccactgcc ggtcagtatt cctcagggac tccagcacag ggtgcatgag gagttctcca 900
aagttaaaaa ctccctcgcc gagaagtcct gctagcccca gcgtgaaggc tctctcctgc 960
tgctcagaca ctggtagatc cttgatgtca acacagccca aaaaccgcag agcatctttg 1020
tagtaggacg cgtgggtttcc gattggttga tagtatttac tggagagatc atagaaacga 1080
ctgtgaaccg atgtcacacc aggaaggttg ttgagcattt cttcaacatc ttcaattggt 1140
tcctttgtaa cctgtaggtc cccgatgttt aatttttagag ctccaattgc tgttttacac 1200
aggatcactg cctcatcact acttttcacc ttctcacgag tcttttccag aaaagtaaga 1260
gccacattag gatcagtcac ctgtctaact acgtgaagaa tgatttccac gagggacaga 1320
ggattcaccc tgtgttcaaa ttactgata aagttttcat aaagcttaat gagaccatct 1380
ccttgggcaa agcacggatc ctgcacaaaa tcaagcacct gaagtgtcag ctgatgccac 1440
aacttcttcg tgtagagctc ctccagacgg tgccacacag cgggctgccc gggcccgag 1500
ctctggtctc gctgtaggaa gcccggtagc tccttcatga cagcagg 1547

```

<210> 6

<211> 102

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TSAP14

<400> 6

```

ggaaccaatc ctaaagaata ttcttacata taataaagaa ttcccatttg atgttcagcc 60
tgtcccatta agaagaattt tggcacctgg taaaaaaaaa aa 102

```

<210> 7

<211> 1825

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TSAP15

<400> 7

```

tcggcctttc acctcttcac ttatccttag tcccagtagc caggatacct gatggccacg 60
tgtgccttgg ccacgggagg ctgctgagat tggccacgtg gctgggctgg gtggtggcct 120
cactctccca cagagctgga aatgggggtt gggggacaga ttcttacgga aattttttta 180
cctgacttgc tatgaaaaaa ctcatcacac aagaagagaa acagtaacct cactttgaaa 240
attagctcca ctcaagacta gtccacgaac gagaccgcgc ttttctacac aggatccaag 300
ctcacgagaa gcagccagag tgccccgcct ccgcgcgtc tggctgcca ttcgccagt 360
cagggatctg gcatggacca gatgtggcga atggcagcac agcgcggtgg ctgggtctgc 420
acactggcct ctgcagccag atttctatat tgggagtttt ttaaaaagac atttcatagc 480
caacaagaat cagtagaagt gctgggagca gcagctgggg aagctgccgc ccacgggctc 540
tgcccccttc agctggagcc gcccgtgcct ccaggggcca agaggatgat gtcgtggcct 600
ccattctcgt ttctatgcag ccccatagtc caaggacacc cagtccacat ctaccatata 660
gcaagtttag taagggaagg cagcatacgt ccaggggaca gtgggtttgg atctgtctag 720
aacagcgggt tgtggctgtg gccagctcc ctagagtata tttgctctgg taggtgagg 780
cctgagggtt catttctcca cctgtgcccc ctcatgttca cagaggattt cagcagctgc 840
aactgcgcac gccaggtggg gaaggggtgg ggtgggcctg gttgccccat gttaggaaat 900
cactaccagt caggtggggc tggggctggg tggacaggat caggattccc ttgaaagccc 960
aggcaggggt agcagtccca gtggctctag tgccgcacat gatccagggt ggtgagggca 1020
ggaggccatg cggaggagcc gtggatctgc ccacacatag gctactggaa tagtttaacc 1080
cagcaacttt cctttttata aaacaacaaa tcggttcaac tctgtctgca aattaacagc 1140
tgaacacctg caactgaaat gttttttgat ccgacgtact gaaatacggg agtcatgctc 1200
ttcccaccct ccaccacca gagtggaaac cgctgcaaaa tccccagcct taattcttgc 1260
ttcaggaccc agaccggtgt ctgtctctag ggcaacccag ggcagagggg ccaggtctgc 1320
ccagcgttta ccactgctgt caagcacagc ccttggcacc atacgggcca tcctcagtga 1380
ggcagccccc cataggcttc cgcaagctct ggtcccgaag aggctgtgcg agcccttccc 1440

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)


```

ggccctcccc agggcccccg cccctctctc tgcttgctgc gtggaggcag ccatgggaag 1500
gagccagagg gagctggcct gggggagcga agcccatgtt cgcttcctga cctagagctg 1560
gggggggtgg ggggtggggc ttgttcccct gcagtatctg ttctgtgaag tttgttaaata 1620
gtaaggaaag cttaaattct tgtatcttta aaagagaaaa tcttatttaa cccttttgtg 1680
ttctagattt acttacacac atagcctaga gctcagtttt agttttaaca ttgtgaaaat 1740
attaaaagaa tcttgtaact ttattctttt ttctcctgct gaaaaaaaaa attaaaccaa 1800
tcgtatgaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1825

```

<210> 8
 <211> 90
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TSAP16

```

<400> 8
tggtattggtc caggattggg gttttgctag tccatagcaa ttcgaagggc agtgggctag 60
tggtatgaga atattggcaa aaaaaaaaaa 90

```

<210> 9
 <211> 131
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TSAP17

```

<400> 9
ctgcttgatg taggagggat taagttagta tttcccgat cgaccaagac aaaattacaa 60
tatacgcata acaaagacaa acaccagtta cttgggtcaa tatccaagtt ttaacctagc 120
aaaaaaaaaa a 131

```

<210> 10
 <211> 121
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TSAP18

```

<400> 10
ggaaccaatc ccaacacaac tggattctac tgaaattacc acatatttga ggtccacaag 60
cacaagtata gatctaattgc aaactgggct cagatttagca gatccatgcc aaaaaaaaaa 120
a 121

```

<210> 11
 <211> 893
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TSAP19

```

<400> 11
atggaggggc acatctgcc a ggcctggag tctgcgaagg ccgggaccgc gttccccggc 60
ccacagtggg ggtgtgcaaa cccgagagaa ctggggtgca aattcgtgaa gaatcagcat 120
catgtttggc agctgagtat tggagccagg agcctgccat gaggttttga gaacagagtg 180

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

```

ctgtttttaga gctggcagca gcatctcagc ccaagagaag gttatatattcc cagaggatgt 240
cagtcccaag gaccagtagc tgccatcagt ttggattctg aaaactaact ggcatcaaca 300
ctgggtgtag aaacatgctt gccttatgta tcagaggaca tgctcagcag atccaagaga 360
tatatttggc aactttttct agaaaaggca cattgggtat cattcattac attcttgagt 420
ttttttgggt tttttttttt ttttttgaga cagtcttgct gtattgccca ggctggagtg 480
tggtggcaca atcacagctc attgcatact caatcaccca ggcctaagca atcctccac 540
cttgtagctg ggactacagc tcacagcaca cctggctaaa attttttttt tgttgagacg 600
gattctctat gttgccagg ctggtctcag gctcctgggc tcagatggtc ctctgcctc 660
agcttccaaa ggcacaggcc aagttgtagc tttgtccctt gccatcatgc ccaacaagag 720
gttctatacc ttttaatgaa ttgactttca taaattgggt atgttgggtg gcaagttctt 780
taagctggaa attgtaaatt cctcctgaaa tgttttttca tgcagttacc atgaactaat 840
actacaataa aggatggctc tgggtgtcaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa 893

```

<210> 12

<211> 151

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TSAP20

<400> 12

```

gatctgactg tagggactat attcattact gctggactat gctgctttcc ccaaccccct 60
aggattttta aaatagcacg ctgcacttga aacaggggaa gacactgtat aacatccaaa 120
tgttcttctt ccctagaggc caaaaaaaaaa a 151

```

<210> 13

<211> 1295

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<223> TSAP21 HOMOLOGUE SNARE

<400> 13

```

atccagcgcc agctggagat catgggcaag gaagtctcgg gcgaccagat cgaggacatg 60
ttcgagcagg gtaagtggga cgtgttttcc gagaacttgc tggccgacgt gaagggcgcg 120
cgggcccggc tcaacgagat cgagagccgc caccgcgaac tgctgcgcct ggagagccgc 180
atccgcgacg tacacgagct cttcttgtag atggcggtgc tggtgagaaa gcaggccgac 240
accctgaacg tcatcgagct caacgtacaa aagacggtcg actacaccgg ccaggccaag 300
gcgcaggtgc ggaaggccgt gcagtacgag gagaagaacc cctgccggac cctctgctgc 360
ttctgctgtc cctgcctcaa gtagcaggcc ggcccgggac gccaccgccc atcccagacc 420
atggagcgcg ctgggaagga cgtcaccaaa gccgggagct ctgccctgca gggagttgcc 480
ccaacccttt ccggaactca gtcttttagaa aagaaaacgcc aggttcaaga attgcaaacc 540
agcctgtgct tggaaagatg gttagttgat accgtccgat gattcttcag taaagataga 600
ttcccacaaa gttgtgcaat gtcattatat gacaccttgc actcttaccg tcttgacaga 660
agccaagtaa ggaactgaag ttgtatctga ctgtagggtg aatgtctgag gcctgcctcc 720
taataaagac tcaaggagga agtcaattgg gcatctgcta atagaatgaa ctcatgatgg 780
aaacttcagt tcatttactt tgtccctgaa aattccctgg ttctgttcca ttttgagcga 840
aattggcctt gggaaaaacc acgttcttcc tttccgattc ttcacccggt ctacggctat 900
gcaattcctc cccaaatata gatcttattt ctgctcattt cccctactta ttaaaatcac 960
accaaact tactattttt ttatctcttt cactttttta atatctttca ccaggttata 1020
ttttgggtatt atttttccaa acattttttaa gcaactgaata tcgaacaagc actcaaattg 1080
aagtatcagt catgttttgt gtatttttctg ctgataaaaa ttattttaaca tttatatatt 1140
tacttgatta catatgcaca tgtatgtaaa tgtaaaatc taatattcac taatatatgt 1200
acataatgat caattgggtt aacttctttt atgtaagtat ggtatataaa tttcaagacg 1260
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1295

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

<210> 14
 <211> 2242
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TSAP22

<400> 14
 agggctcgag cggccgcccc ggcaggttgt gttcttaatt tgcttttccc ttgtgagtcc 60
 tgcattcattt gaaaatgtcc atgcaaagtgt gtatcctgag gtgcggcacc actgtcccaa 120
 cactcccatc atcctagtgtg gaactaaact tgatccttag gatgataaag acacgatcga 180
 gaaactgaag gagaagaagc tgactcccat cacctatccg caggggtctag ccatggctaa 240
 ggagatttgt atggaatcct gtgtttttcc tcctccttgt acctctttta ttgtagtgtac 300
 agactggagt ccagtctggg aaaggagggt gtgtgtctcc cactcagggc ctggtgtact 360
 cttgggggaa cagctggcaa ggccctctgg gtcttaacgt cagcgttga aggtggaagc 420
 agggctggga gccggcagaa ggcccccggg cccaggagc cgcctccgc tgggtggtgtg 480
 atcagaagag agtgggggtcg agtgtacatt gccgtgtggt cgtgtttcct gtagggtgtg 540
 taaaatacct ggagtgtctg gcgctcacac agcaggcct caagacagt tttgacgaag 600
 cgatccgagc agtctctgtc ccgcctcccg tgaagaagag gaagagaaaa tgctgtgtgt 660
 tgtaaatgtc tcagcccctc gttcttggtc ctgtcccttg gaacctttgt acgctttgtct 720
 caaaaaaaaa caaaaaaaag aaaaaagtgc caaaaaaaaa aaacaacggt ggagccttcg 780
 cactcaatgc caactttttg ttacagatta atttttccat aaaaccattt tttgaaccaa 840
 tcagtaattt taaggttttg tttgttctaa atgtaagagt tcagactcac attctattaa 900
 aatttagccc taaaatgaca agccttctta aagccttatt tttcaaaagc gcccccccca 960
 ttcttgttca gattaagagt tgccaaaata ccttctgaac tacactgcat tgttgtgccg 1020
 agaacaccga gcactgaact ttgcaaagac cttcgtcttt gagaagacgg tagcttctgc 1080
 agttaggagg tgcagacact tgctctccta tgtagttctc agatgcgtaa agcagaacag 1140
 cctcccgaat gaagcgttgc cattgaactc accagttagt tagcagcacg tgttcccga 1200
 ataacattgt actgtaattg agtgagcgtg gcagctcagc tctttggatc agtctttgtg 1260
 atttcatagc gagttttctg accagctttt gcgagagatt tgaacagaa tgctatttcc 1320
 tctaataag aattctgttt agctgtgggt gtgcgggtg ggggtgtgtg gatcaaagga 1380
 caaagacagt attttgacaa aatacgaagt ggagatttac actacattgt acaaggaatg 1440
 aaagtgtcac gggtaaaaac tctaaaaggt taatttctgt caaatgcagt agatgatgaa 1500
 agaaagggtg gtattatcag gaaatgtttt cttaagcttt tcctttctct tacacctgcc 1560
 atgcctcccc aaattgggca tttaattcat ctttaaactg gttgttctgt tagtcgctaa 1620
 cttagtaagt gcttttctta tagaaccct tctgactgag caatatgcct ccttgattta 1680
 taaaatcttt ctgataatgc attagaaggt ttttttgtcg attagtaaaa gtgctttcca 1740
 tgttacttta ttcagagcta ataagtgtt tccttagttt tctagtaact aggtgtaaaa 1800
 atcatgtgtt gcagctttat agtttttaaa atattttaga taattcttaa actatgaacc 1860
 ttcttaacat cactgtcttg ccagattacc gacactgtca cttgaccaat actgaccctc 1920
 tttacctcgc ccacgcggac acacgcctcc tggtagtcgc tttgcctatt gatggttcc 1980
 ttgggtctgt gaggttctgt aaactggtgc tagtgctgac gatgttctgt acaacttaac 2040
 tcaactggcg gaatacaggg tgggaccctt cagccactac aacagaattt tttaaattgc 2100
 cagttgcaaa attgtggagt gtttttacat tgatcttttg ctaatgcaat tagcattatg 2160
 ttttgcattg atgacttaat aaatccttga atcataaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2220
 aaaaaaagcg gccgctgaaa cc 2242

<210> 15
 <211> 144
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> TSIP3

<400> 15
 ggaaccaatc caaatgccca tcaatgatag actagataaa gaaaatatag tacatatgca 60

THIS PAGE BLANK (USPTO)

```
ccatgtaata ctatgcagcc gtataaaaaa aataaaaaaa agacagacaa ggccaaggcc 120
aggcacggtg ggtataaaaaa aaaa                                     144
```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC., FR 99/01479

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/12 C12N15/86 C12N5/10 C07K14/82 C07K14/47
C07K16/32 C12Q1/68 G01N33/50 A61K31/70 A61K38/17

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C07K C12Q G01N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-------------------------------|
| X | WO 97 22695 A (FONDATION JEAN DAUSSET CEPH ;TALERMAN ADAM (FR); AMSON ROBERT (FR)) 26 June 1997 (1997-06-26) abstract page 1 -page 3 examples 1,2 claims 1-32 * note that the term upstream genes, in particular P53, ensures the regulation of the genes presently claimed * | 16, 18, 21, 22 |
| A | --- | 1-15, 17, 19, 20, 23-25 |
| | -/-- | |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 October 1999

Date of mailing of the international search report

21/10/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Galli, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC./FR 99/01479

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| X | AMSON R B ET AL: "ISOLATION OF 10 DIFFERENTIALLY EXPRESSED CNDAS IN P53-INDUCED APOPTOSIS: ACTIVATION OF THE VERTEBRATE HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA SEVEN IN ABSENTIA GENE" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 93, no. 9, 30 April 1996 (1996-04-30), pages 3953-3957, XP002032914 ISSN: 0027-8424 --- | 16,18, 21,22 |
| X | WO 95 20654 A (CANCER RES INST ROYAL ;WILLISON KEITH ROBERT (GB); KUBOTA HIROSHI) 3 August 1995 (1995-08-03) abstract figure 8E claims 1-28 --- | 1,8-20 |
| X | DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. AA935282, 23 June 1998 (1998-06-23) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1556458" XP002104346 * compare with the sequence 2 of the file submitted * --- | 1,8-14 |
| X | DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. AI022498, 19 June 1998 (1998-06-19) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1650253, similar to T-complex protein 1 (TCP-1) epsilon subunit." XP002104347 * compare with the sequence 1 of the file submitted * --- | 1,8-14 |
| A | NEMANI M. ET AL: "ACTIVATION OF THE HUMAN HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA SINA GENE IN APOPTOSIS AND TUMOR SUPPRESSION" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 93, no. 17, 20 August 1996 (1996-08-20), pages 9039-9042, XP000611649 cited in the application --- | 1-25 |

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 99/01479

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| A | <p>ROPERCH J.P. ET AL.: "Inhibition of presenilin-1 expression is promoted by p53 and p21/WAF1 and results in apoptosis and tumor suppression." NATURE MEDICINE, vol. 4, no. 7, July 1998 (1998-07), pages 835-838, XP002104344 cited in the application the whole document</p> | 1-25 |
| A | <p>ISRAELI D. ET AL.: "A novel p53-inducible gene, PAG608, encodes a nuclear zinc finger protein whose overexpression promotes apoptosis." EMBO J., vol. 16, no. 14, 1997, pages 4384-4392, XP002104345 the whole document</p> | 1-25 |
| A | <p>LINARE-CRUZ G. ET AL.: "p21WAF-1 reorganizes the nucleus in tumor suppression" PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, vol. 95, no. 3, 3 February 1998 (1998-02-03), pages 1131-1135, XP002118217 the whole document</p> | 1-25 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/01479

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9722695 A | 26-06-1997 | FR 2742766 A | 27-06-1997 |
| | | FR 2747691 A | 24-10-1997 |
| | | CA 2240449 A | 26-06-1997 |
| | | EP 0868512 A | 07-10-1998 |
| WO 9520654 A | 03-08-1995 | AU 1541395 A | 15-08-1995 |
| | | CA 2182499 A | 03-08-1995 |
| | | EP 0742822 A | 20-11-1996 |
| | | JP 10500001 T | 06-01-1998 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document Internationale No

PLI/FR 99/01479

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

| | | | | | |
|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| CIB 7 | C12N15/12 | C12N15/86 | C12N5/10 | C07K14/82 | C07K14/47 |
| | C07K16/32 | C12Q1/68 | G01N33/50 | A61K31/70 | A61K38/17 |

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C12N C07K C12Q G01N A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|--|-------------------------------|
| X | WO 97 22695 A (FONDATION JEAN DAUSSET CEPH ; TALERMAN ADAM (FR); AMSON ROBERT (FR)) 26 juin 1997 (1997-06-26) abrégé page 1 -page 3 exemples 1,2 revendications 1-32 * remarquez que l'expression de gènes en amont, notamment p53, assure la régulation des gènes revendiqués ici * | 16, 18, 21, 22 |
| A | --- | 1-15, 17, 19, 20, 23-25 |
| | -/- | |



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

8 octobre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

21/10/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Galli, I

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités. avec le cas échéant. l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|---|-------------------------------|
| X | AMSON R B ET AL: "ISOLATION OF 10 DIFFERENTIALLY EXPRESSED CNDAS IN P53-INDUCED APOPTOSIS: ACTIVATION OF THE VERTEBRATE HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA SEVEN IN ABSENTIA GENE" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 93, no. 9, 30 avril 1996 (1996-04-30), pages 3953-3957, XP002032914 ISSN: 0027-8424 --- | 16,18, 21,22 |
| X | WO 95 20654 A (CANCER RES INST ROYAL ;WILLISON KEITH ROBERT (GB); KUBOTA HIROSHI) 3 août 1995 (1995-08-03) abrégé figure 8E revendications 1-28 --- | 1,8-20 |
| X | DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. AA935282, 23 juin 1998 (1998-06-23) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1556458" XP002104346 * comparez avec la séq. 2 du dossier soumis * | 1,8-14 |
| X | DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. AI022498, 19 juin 1998 (1998-06-19) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1650253, similar to T-complex protein 1 (TCP-1) epsilon subunit." XP002104347 * comparez avec la séq. 1 du dossier soumis * | 1,8-14 |
| A | NEMANI M. ET AL: "ACTIVATION OF THE HUMAN HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA SINA GENE IN APOPTOSIS AND TUMOR SUPPRESSION" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 93, no. 17, 20 août 1996 (1996-08-20), pages 9039-9042, XP000611649 cité dans la demande --- -/-- | 1-25 |

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

| Catégorie | Identification des documents cités. avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents | no. des revendications visées |
|-----------|--|-------------------------------|
| A | <p>ROPERCH J.P. ET AL.: "Inhibition of presenilin-1 expression is promoted by p53 and p21/WAF1 and results in apoptosis and tumor suppression." NATURE MEDICINE, vol. 4, no. 7, juillet 1998 (1998-07), pages 835-838, XP002104344 cité dans la demande le document en entier ----</p> | 1-25 |
| A | <p>ISRAELI D. ET AL.: "A novel p53-inducible gene, PAG608, encodes a nuclear zinc finger protein whose overexpression promotes apoptosis." EMBO J., vol. 16, no. 14, 1997, pages 4384-4392, XP002104345 le document en entier ----</p> | 1-25 |
| A | <p>LINARE-CRUZ G. ET AL.: "p21WAF-1 reorganizes the nucleus in tumor suppression" PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, vol. 95, no. 3, 3 février 1998 (1998-02-03), pages 1131-1135, XP002118217 le document en entier -----</p> | 1-25 |

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatif: : membres de familles de brevets

Dem. Internationale No

PC1/FR 99/01479

| Document brevet cité au rapport de recherche | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | Date de publication |
|---|------------------------|---|------------------------|
| W0 9722695 A | 26-06-1997 | FR 2742766 A | 27-06-1997 |
| | | FR 2747691 A | 24-10-1997 |
| | | CA 2240449 A | 26-06-1997 |
| | | EP 0868512 A | 07-10-1998 |
| W0 9520654 A | 03-08-1995 | AU 1541395 A | 15-08-1995 |
| | | CA 2182499 A | 03-08-1995 |
| | | EP 0742822 A | 20-11-1996 |
| | | JP 10500001 T | 06-01-1998 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC., FR 99/01479

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/12 C12N15/86 C12N5/10 C07K14/82 C07K14/47
C07K16/32 C12Q1/68 G01N33/50 A61K31/70 A61K38/17

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C07K C12Q G01N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-------------------------------|
| X | WO 97 22695 A (FONDATION JEAN DAUSSET CEPH ; TALERMAN ADAM (FR); AMSON ROBERT (FR)) 26 June 1997 (1997-06-26) abstract page 1 -page 3 examples 1,2 claims 1-32 * note that the term upstream genes, in particular P53, ensures the regulation of the genes presently claimed * | 16, 18, 21, 22 |
| A | | 1-15, 17, 19, 20, 23-25 |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 October 1999

Date of mailing of the international search report

21/10/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-(0)340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-(0)340-3016

Authorized officer

Galli, I

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PC./FR 99/01479

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|--|-----------------------|
| X | AMSON R B ET AL: "ISOLATION OF 10 DIFFERENTIALLY EXPRESSED CNDAS IN P53-INDUCED APOPTOSIS: ACTIVATION OF THE VERTEBRATE HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA SEVEN IN ABSENTIA GENE" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 93, no. 9, 30 April 1996 (1996-04-30), pages 3953-3957, XP002032914 ISSN: 0027-8424 --- | 16,18, 21,22 |
| X | WO 95 20654 A (CANCER RES INST ROYAL ;WILLISON KEITH ROBERT (GB); KUBOTA HIROSHI) 3 August 1995 (1995-08-03) abstract figure 8E claims 1-28 --- | 1,8-20 |
| X | DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. AA935282, 23 June 1998 (1998-06-23) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1556458" XP002104346 * compare with the sequence 2 of the file submitted * | 1,8-14 |
| X | DATABASE GENBANK 'Online! Accession No. AI022498, 19 June 1998 (1998-06-19) STRAUSBERG R.: "EST; H. sapiens cDNA clone IMAGE:1650253, similar to T-complex protein 1 (TCP-1) epsilon subunit." XP002104347 * compare with the sequence 1 of the file submitted * | 1,8-14 |
| A | NEMANI M. ET AL: "ACTIVATION OF THE HUMAN HOMOLOGUE OF THE DROSOPHILA SINA GENE IN APOPTOSIS AND TUMOR SUPPRESSION" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 93, no. 17, 20 August 1996 (1996-08-20), pages 9039-9042, XP000611649 cited in the application --- | 1-25 |
| | -/-- | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|----------|---|-----------------------|
| A | <p>ROPERCH J.P. ET AL.: "Inhibition of presenilin-1 expression is promoted by p53 and p21/WAF1 and results in apoptosis and tumor suppression." NATURE MEDICINE, vol. 4, no. 7, July 1998 (1998-07), pages 835-838, XP002104344 cited in the application the whole document</p> | 1-25 |
| A | <p>ISRAELI D. ET AL.: "A novel p53-inducible gene, PAG608, encodes a nuclear zinc finger protein whose overexpression promotes apoptosis." EMBO J., vol. 16, no. 14, 1997, pages 4384-4392, XP002104345 the whole document</p> | 1-25 |
| A | <p>LINARE-CRUZ G. ET AL.: "p21WAF-1 reorganizes the nucleus in tumor suppression" PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, vol. 95, no. 3, 3 February 1998 (1998-02-03), pages 1131-1135, XP002118217 the whole document</p> | 1-25 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter: Application No

PC/FR 99/01479

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9722695 A | 26-06-1997 | FR 2742766 A | 27-06-1997 |
| | | FR 2747691 A | 24-10-1997 |
| | | CA 2240449 A | 26-06-1997 |
| | | EP 0868512 A | 07-10-1998 |
| WO 9520654 A | 03-08-1995 | AU 1541395 A | 15-08-1995 |
| | | CA 2182499 A | 03-08-1995 |
| | | EP 0742822 A | 20-11-1996 |
| | | JP 10500001 T | 06-01-1998 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)